



Ana Rita Brito Iria

Licenciada em Ciências de Engenharia do Ambiente

**Efeitos da presença de antibióticos nas origens
de água. Contribuição para o estudo da sua
remoção através de sistemas de tratamento de
águas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente, Perfil de Sanitária

Orientadora: Prof. Doutora Maria Gabriela Lourenço da Silva Féria
de Almeida, FCT/UNL

Júri

Presidente: Doutora Maria Luísa Faria de Castro Castro e Lemos
Arguente: Doutora Rita Maurício Rodrigues Rosa
Vogal: Doutora Maria Gabriela Lourenço Silva Féria de Almeida



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Junho, 2018



Ana Rita Brito Iria

Licenciada em Ciências de Engenharia do Ambiente

**Efeitos da presença de antibióticos nas origens
de água. Contribuição para o estudo da sua
remoção através de sistemas de tratamento de
águas**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente, Perfil de Sanitária

Orientadora: Prof. Doutora Maria Gabriela Lourenço da Silva Féria
de Almeida, FCT/UNL

Júri

Presidente: Doutora Maria Luísa Faria de Castro Castro e Lemos
Arguente: Doutora Rita Maurício Rodrigues Rosa
Vogal: Doutora Maria Gabriela Lourenço Silva Féria de Almeida



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Junho, 2018

Efeitos da presença de antibióticos nas origens de água. Contribuição para o estudo da sua remoção através de sistemas de tratamento de águas

Copyright © Ana Rita Brito Iria, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Aos meus pais

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, à minha orientadora Prof. Doutora Gabriela Almeida por me ter despertado interesse pela área do tratamento de águas durante as suas aulas e pelo apoio e ajuda ao longo desta dissertação.

Um agradecimento à instituição universitária, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, pelo acolhimento e formação académica concedidos, em particular ao Departamento de Engenharia do Ambiente.

Um agradecimento geral a todos os meus amigos pelo apoio ao longo deste processo, em especial à Nadine Lopes, minha colega de casa e amiga, pela paciência e incentivo que prestou nesta jornada.

Ao Ricardo, quero agradecer pelo seu incentivo em continuar e pela ajuda a ultrapassar alguns obstáculos ao longo do tempo que durou a elaboração da dissertação.

Por último, quero fazer um agradecimento muito especial e o mais importante, aos meus pais e irmão pelo apoio incondicional. Agradeço o esforço e confiança que depositaram em mim.

RESUMO

O aumento da presença vestigial de antibióticos nas origens de água utilizadas para produção de água para consumo humano e na própria água para consumo tem sido alvo de diversos estudos e merecido especial atenção por parte da comunidade científica.

A sua presença em meios hídricos pode dever-se a um aumento do consumo de medicamentos, de descargas de águas industriais farmacêuticas, um inadequado destino final de antibióticos fora de validade, mas resulta, essencialmente, das reduzidas eficiências das Estações de Tratamento de Águas Residuais na eliminação destes compostos com características persistentes e de elevada solubilidade na água.

Apesar da sua deteção na água, estudos indicam que os antibióticos, nas concentrações em que são detetados, parecem não apresentar risco para os organismos aquáticos, nem para a saúde humana através do consumo de água. Apesar disso, alguns compostos apresentam-se mais tóxicos que outros sendo necessários mais estudos para se poder confirmar a inocuidade da presença destes compostos em meios hídricos.

A constante deteção de antibióticos nas águas de consumo sugere que os sistemas de tratamento comumente utilizados nas Estações de Tratamento de Águas não removem de forma eficaz estes compostos. Neste contexto, torna-se relevante a avaliação dos sistemas de tratamento por forma a permitir a remoção dos mesmos.

A presente dissertação teve como objetivo contribuir para a otimização dos sistemas de tratamento para consumo no que respeita à remoção de compostos farmacêuticos, nomeadamente os antibióticos. Para tal, foram estudados três antibióticos de classes diferentes: Eritromicina, Ciprofloxacina e Sulfametoxazol.

De uma maneira geral, os processos que obtiveram eficiências mais elevadas na remoção dos antibióticos selecionados foram o carvão ativado, os processos de separação por membranas e os processos avançados de oxidação.

Palavras - chave: Antibióticos, ETA, processos de remoção, resistência bacteriana, água para consumo

ABSTRACT

The increased presence of antibiotics' trace concentration in water sources used for the production of water for human consumption and also in drinking water has been the subject of several studies and deserved special attention by the scientific community.

Their presence in water resources may be due to increased consumption of medicines, discharges of pharmaceutical industrial waters or inadequate final destination of out-of-date antibiotics. However the mainly reason is the Wastewater Treatment Plants' reduced efficiencies while removing compounds with persistent and high solubility characteristics in water.

Despite their detection in water, studies indicate that antibiotics at concentrations which they are detected, appear to present no risk to aquatic organisms, nor to human health through water consumption. Nevertheless, some compounds are more toxic than others, and further studies are needed to confirm the safety of the presence of these compounds in water environmental.

The constant detection of antibiotics in drinking water suggests that the treatment systems commonly used in Water Treatment Plants do not effectively remove these compounds. In this context, it becomes relevant to evaluate the treatment systems in order to allow their removal.

The objective of this dissertation was to contribute to the optimization of treatment systems related to human consumption, in the removal of pharmaceutical compounds, particularly antibiotics. For this, three antibiotics of different classes were studied: Erythromycin, Ciprofloxacin and Sulfamethoxazole.

In general, the processes that obtained the highest efficiencies in the removal of selected antibiotics were activated carbon, membrane separation processes and advanced oxidation processes.

Keywords: Antibiotics, WTP, removal processes, bacterial resistance, drinking water.

ÍNDICE

Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
Notações	xxiii
1 Introdução	1
1.1 Enquadramento geral	1
1.2 Relevância do estudo	3
1.3 Objetivos	5
1.4 Organização da dissertação	5
2 Revisão Bibliográfica	7
2.1 Antibióticos	7
2.2 Antibióticos no meio hídrico	11
2.2.1 Antibióticos em Portugal	16
2.3 Características e comportamentos	19
2.3.1 Metabolismo e Excreção	19
2.3.2 Antibióticos e a sua degradação no ambiente	20
2.4 Efeitos ecotoxicológicos dos antibióticos	22
2.5 Efeitos/Riscos sobre a Saúde Humana	29
2.6 Resistência bacteriana aos antibióticos	36
2.7 Tecnologias de tratamento de remoção de antibióticos da água para consumo	41
2.7.1 Processos de oxidação/ desinfeção	42
2.7.1.1 Cloragem	43
2.7.1.2 Ozonização	44
2.7.1.3 Radiação ultravioleta	45
2.7.2 Processos avançados de oxidação	45
2.7.3 Carvão ativado	46
2.7.4 Processos de separação por membranas	47
2.8 Eficiências de Remoção	49
2.8.1 Processos de oxidação	50
2.8.1.1 Ozono	50

2.8.1.2	Cloro	52
2.8.1.3	Radiação Ultravioleta	54
2.8.2	Processos avançados de oxidação	56
2.8.3	Carvão Ativado	59
2.8.4	Processos de separação por membrana	63
2.8.5	Sistemas de tratamentos	68
3	Antibióticos Seleccionados	73
3.1	Eritromicina	73
3.1.1	Efeitos toxicológicos	75
3.1.2	Processos de remoção	76
3.2	Ciprofloxacina	77
3.2.1	Efeitos toxicológicos	80
3.2.2	Processos de remoção	81
3.3	Sulfametoxazol	82
3.3.1	Efeitos toxicológicos	84
3.3.2	Processos de remoção	86
4	Discussão e Conclusão	89
5	Propostas de trabalho futuro	95
	Bibliografia	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Publicações entre os anos 2000 e 2010	2
Figura 1.2	Classes terapêuticas detetadas no ambiente, expresso em percentagem relativa	2
Figura 1.3	Possíveis vias de entrada e contaminação dos compostos farmacêuticos no ambiente	4
Figura 2.1	Classes de antibióticos mais consumidas na Europa em 2012	10
Figura 2.2	Concentrações médias dos compostos farmacêuticos detetados na água potável proveniente do rio Reno	14
Figura 2.3	Concentrações médias dos 17 compostos farmacêuticos detetados na água da torneira, na China.	15
Figura 2.4	Localização dos locais de amostragem no estuário do rio Douro	16
Figura 2.5	Concentrações do antibiótico sulfametoxazol detetadas nos diferentes locais	17
Figura 2.6	Concentrações máximas dos compostos farmacêuticos quantificados nas diferentes captações da EPAL	18
Figura 2.7	Percentagem de deteções positivas para os compostos farmacêuticos detetados tanto nas amostras de água bruta como na água para consumo	19
Figura 2.8	Representação esquemática da biotransformação dos compostos farmacêuticos para aumentar a sua polaridade	20
Figura 2.9	Perfil dos valores RQ nas diferentes fases de vida de produtos farmacêuticos detetados na água da torneira na China	32
Figura 2.10	Quocientes de risco calculados para o consumo vitalício de água potável preparada a partir da ETA do rio Reno.	34
Figura 2.11	Sistema urbano do ciclo da água	36
Figura 2.12	Influência dos processos de tratamento de água nas taxas de resistência a antibióticos de bactérias em várias concentrações de antibióticos para diferentes antibióticos.	40
Figura 2.13	Linha de tratamento convencional de uma estação de tratamento de águas	41
Figura 2.14	Localização dos processos de oxidação/desinfecção numa linha de tratamento de água para abastecimento	43

Figura 2.15 Pontos de aplicação de carvão ativado em pó (CAP) e carvão ativado granulado (CAG)	47
Figura 2.16 Correntes do processo membranar	48
Figura 2.17 Capacidade de separação dos processos de separação por membranas .	49
Figura 2.18 Percentagem de remoção dos compostos versus tempo de ozonização .	51
Figura 2.19 Efeito da dosagem de ozono na remoção de antibióticos	51
Figura 2.20 Concentração residual relativa dos antibióticos selecionados das classes sulfonamidas e macrólidos na água subterrânea em função do tempo de contacto. Condições experimentais: $\text{ClO}_2 = 0,1 \text{ mg/L}$; $\text{pH}=7,5$; $T=20^\circ\text{C}$; Sulfonamidas = $1 \mu\text{g/L}$; Macrólidos = 100 ng/L	52
Figura 2.21 Eficiências de remoção esperadas de várias fluoroquinolonas de águas residuais e superficiais ($\text{ClO}_2 = 1 \text{ mg/L}$; 30 min)	53
Figura 2.22 Remoção oxidativa de seis sulfonamidas, em águas superficiais, por cloro livre (1 mg/L) e em função do pH.	54
Figura 2.23 Eficiência de remoção dos compostos estudados em função da dosagem de UV (254 nm) em água destilada (A) e na água superficial do rio Missouri (B)	55
Figura 2.24 Eficiência de remoção da ciprofloxacina através de radiação UV com diferentes comprimentos de onda	55
Figura 2.25 Efeito da razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$ na remoção do sulfametoxazol ($\text{O}_3 = 2 \text{ mg/L}$; $\text{pH} = 6,24$) e da eritromicina ($\text{O}_3 = 3 \text{ mg/L}$; $\text{pH} = 6,29$)	57
Figura 2.26 Remoção dos compostos estudados por ozonização simples	57
Figura 2.27 Remoção dos compostos estudados por ozonização combinada com H_2O_2	58
Figura 2.28 Remoção dos compostos estudados por H_2O_2 combinado com UV-C . .	58
Figura 2.29 Percentagem de remoção dos compostos estudados com CAP na amostra de águas destilada (A) e da água do rio Missouri (B) versus dosagem de CAP (mg/L)	59
Figura 2.30 Concentrações de sulfametoxazol versus dosagem de CAP. Taxa de remoção do antibiótico	60
Figura 2.31 Concentrações dos antibióticos versus dosagem de CAP	61
Figura 2.32 Distribuição dos valores de remoção da amoxicilina nos filtros CAG e CAB	63
Figura 2.33 Eficiências médias de retenção de EDC/PPCP pelas membranas de nanofiltração e ultrafiltração.	64
Figura 2.34 Eficiências de retenção de antibióticos veterinários pelas membranas de nanofiltração e osmose inversa	66
Figura 2.35 Eficiências de retenção de EDC/PPCP pelas membranas de nanofiltração	67
Figura 2.36 Esquema do sistema de tratamento da ETA	68
Figura 2.37 Esquema do sistema de tratamento da ETA estudada	69
Figura 2.38 Variação da concentração de PPCP durante os processos de tratamento (com e sem ozono)	71

Figura 3.1	Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico eritromicina . .	74
Figura 3.2	Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico ciprofloxacina .	78
Figura 3.3	Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico sulfametoxazol .	83
Figura 4.1	Proposta de implementação de um sistema de tratamento de água. . .	92
Figura 4.2	Proposta de implementação/reabilitação de um sistema de tratamento de água	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Principais classes de antibióticos	8
Tabela 2.2	Quantidade total de antibióticos consumidos na Europa em 2008-2012 (valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia)	9
Tabela 2.3	Concentrações médias e máximas de antibióticos detetadas em diferentes amostras de água	12
Tabela 2.4	Concentrações dos antibióticos detetados nas amostras de água	13
Tabela 2.5	Percentagem de antibióticos excretados na sua forma original após a metabolização por parte do organismo	20
Tabela 2.6	Suscetibilidade de classes de antibióticos a processos de remoção / degradação no ambiente	21
Tabela 2.7	Testes e efeitos de toxicidade aguda e crónica	23
Tabela 2.8	Espécies e parâmetros avaliados nos testes de toxicidade aguda e crónica	24
Tabela 2.9	Resultados dos testes de toxicidade aguda e crónica	24
Tabela 2.10	Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} na experiência de toxicidade individual (mg/L)	26
Tabela 2.11	Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} na experiência de toxicidade combinada (mg/L)	27
Tabela 2.12	Toxicidade dos compostos enrofloxacin e ciprofloxacina em organismos foto autotróficos.	27
Tabela 2.13	Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} dos antibióticos amoxicilina, ampicilina, gentamicina, cefalotina, vancomicina e ciprofloxacina em testes individuais e misturas (mg/L)	28
Tabela 2.14	Resultados obtidos na avaliação do risco ambiental dos compostos farmacêuticos.	29
Tabela 2.15	Variáveis usadas para o cálculo do valor de DWEL	32
Tabela 2.16	DWEL e RQ estimados para os diferentes intervalos de idade.	33
Tabela 2.17	Valores médios de RQ para o total de cinco antibióticos através do consumo de água potável e do consumo de peixes para residentes do sexo masculino e feminino na bacia do rio Yinma	35
Tabela 2.18	Valores de RQ de cinco antibióticos para a saúde humana de homens e mulheres na Bacia do rio Yinma	35

Tabela 2.19	Características dos processos de separação por membranas	49
Tabela 2.20	Remoção de antibióticos por UV	56
Tabela 2.21	Remoção de antibióticos com diferentes doses de O_3 e H_2O_2	56
Tabela 2.22	Eficiência de remoção de 28 antibióticos através de diferentes dosagens de CAP (mg/L)	62
Tabela 2.23	Comportamento dos antibióticos selecionados na ETA usando processos convencionais e não convencionais	70
Tabela 3.1	Características da eritromicina	74
Tabela 3.2	Concentrações de eritromicina detetadas em águas superficiais, subterrâneas e de abastecimento.	75
Tabela 3.3	Testes ecotoxicológicos da eritromicina em diversos organismos.	76
Tabela 3.4	Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico eritromicina	77
Tabela 3.5	Características da ciprofloxacina	78
Tabela 3.6	Concentrações de ciprofloxacina detetadas em águas superficiais, águas subterrâneas e águas de abastecimento.	79
Tabela 3.7	Testes ecotoxicológicos da ciprofloxacina em diversos organismos	80
Tabela 3.8	Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico ciprofloxacina	81
Tabela 3.9	Características do sulfametoxazol.	82
Tabela 3.10	Concentrações de sulfametoxazol detetadas em águas superficiais, águas subterrâneas e águas de abastecimento.	84
Tabela 3.11	Testes ecotoxicológicos do sulfametoxazol em diversos organismos	85
Tabela 3.12	Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico sulfametoxazol	86
Tabela 4.1	Eficiências de remoção mais elevadas dos antibióticos selecionados	92

NOTAÇÕES

ADI	Ingestão diária aceitável
ARB	Bactérias resistentes a antibióticos
BAF	Fator de Bioacumulação
CAB	Carvão Ativado Biológico
CAG	Carvão Ativado Granulado
CAP	Carvão Ativado em Pó
DDD	Dose diária recomendada
DWEL	<i>Drining water equivalent level</i>
EDC	Compostos disruptores endócrinos
EPAL	Empresa Portuguesa das Águas Livres
ETA	Estação de Tratamento de Águas
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
MIC	Concentração mínima inibitória
MOA	Modo de ação
NOM	Matéria orgânica natural
PAO	Processos avançados de oxidação
PCP	Produtos de higiene pessoal
PNEC	Concentrações previstas sem efeito
PPCP	Compostos farmacêuticos e produtos de cuidados pessoais
UV	Ultravioleta

INTRODUÇÃO

1.1 Enquadramento geral

Nas últimas décadas, a presença de compostos farmacêuticos nas origens de água utilizadas para produção de água para consumo humano tem merecido especial atenção da comunidade científica, em todo o mundo, a qual tem sido objeto de investigação de diversos estudos. A sua presença, em concentrações vestigiais, não está completamente comprovada de ser inócua para a saúde humana.

Os compostos farmacêuticos são propositadamente concebidos e administrados para melhorar a qualidade de vida e aumentar a esperança de vida, tanto de humanos como de animais (Wen *et al.*, 2014), sendo, em contrapartida, considerados atualmente, como uma classe de contaminantes ambientais de elevada preocupação devido ao seu potencial efeito tóxico em organismos *non target* (Leung *et al.*, 2013).

Compostos como os antibióticos, hormonas, anestésicos, anti-inflamatórios, antiepilépticos, entre outros, têm sido detetados em águas residuais domésticas, águas superficiais, águas subterrâneas e por vezes, na água potável em diversos países. Apesar de se encontrarem, no meio hídrico, em baixas concentrações ($\mu\text{g/L}$ e ng/L), estes compostos são já denominados de compostos emergentes, e a possibilidade de poderem constituir risco para os organismos aquáticos e para a saúde humana é uma preocupação (Monteiro Boxall, 2010; Kümmerer, 2009c). Esta problemática tem sido alvo de um crescente interesse a nível mundial, traduzindo-se na realização e publicação de inúmeros estudos (figura 1.1).

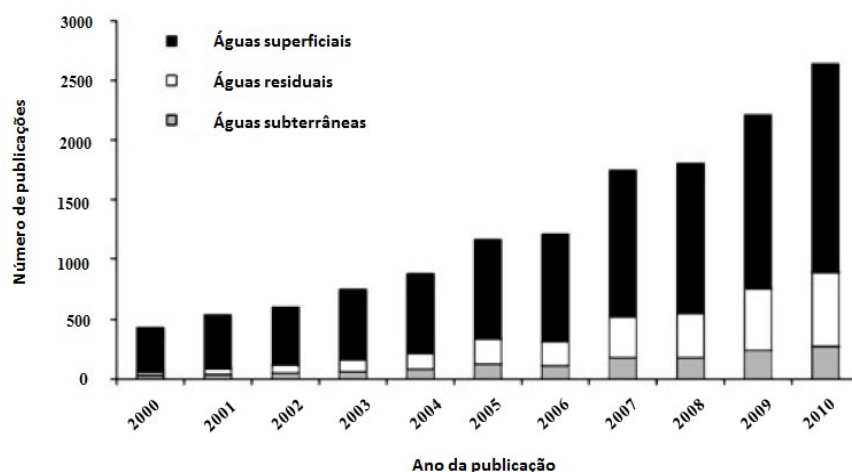


Figura 1.1: Publicações entre os anos 2000 e 2010 (Adaptado de Fatta-Kassinos *et al.*, 2010)

O progressivo aumento da preocupação com esta temática levou à necessidade de utilização de tecnologia avançada que com técnicas analíticas contribuíram na identificação e quantificação de um vasto número de compostos farmacêuticos em águas superficiais, águas residuais e águas de consumo (Pereira *et al.*, 2015).

Atualmente, o número de compostos farmacêuticos detetados no ambiente é vasto. A figura 1.2 apresenta os dados analisados por Santos *et al.* (2010) em 134 artigos, publicados entre 1997 e 2009, no qual se pode observar a percentagem relativa das classes terapêuticas detetadas no ambiente. Os antibióticos constituem uma das classes mais comumente encontradas no ambiente.

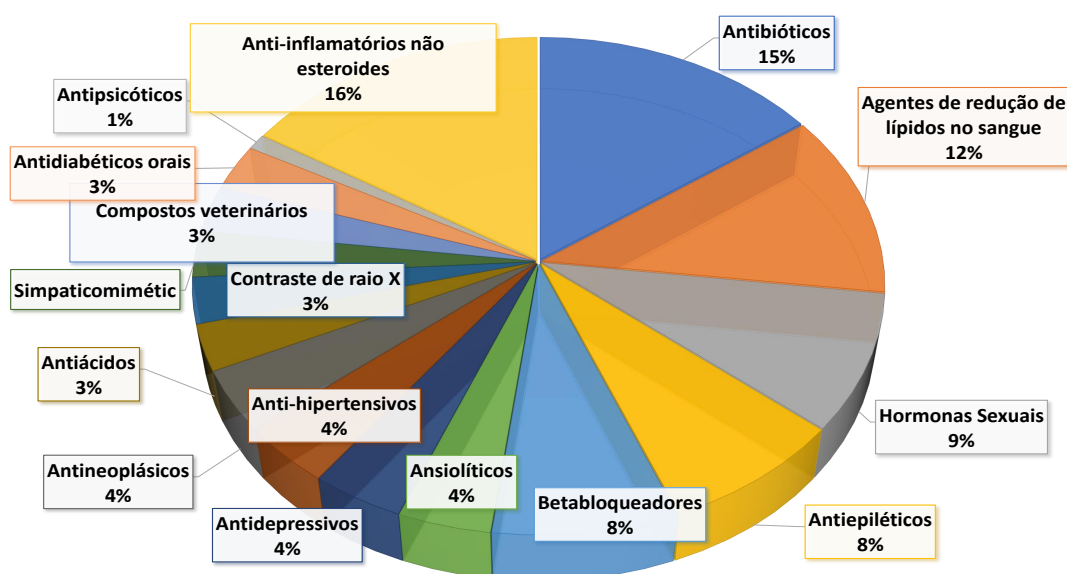


Figura 1.2: Classes terapêuticas detetadas no ambiente, expresso em percentagem relativa (Adaptado de Santos *et al.*, 2010)

No final da década de 70 realizaram-se as primeiras pesquisas sobre a presença de

compostos farmacêuticos no ambiente. Nos Estados Unidos, Garrison e seus colaboradores conduziram o primeiro estudo onde foi detectada a presença de ácido clofíbrico (metabolito dos antilipídicos clofibrato e etofibrato), em efluentes de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR), em concentrações até 2 $\mu\text{g/L}$. Mais tarde Hignite e Azarnoff detectaram concentrações até 10 $\mu\text{g/L}$ de ácido clofíbrico e 95.62 $\mu\text{g/L}$ de ácido salicílico no efluente da mesma ETAR (Melo *et al.*, 2009).

Um dos primeiros estudos a reportar a presença de um fármaco nas águas de consumo foi publicado em 1993. Heberer detectou a presença de ácido clofíbrico, na água da torneira em Berlim em elevadas concentrações (>165 ng/L), revelando a alarmante possibilidade da ingestão dos produtos farmacêuticos, pelos seres humanos, através do consumo de água potável (Huerta-Fontela *et al.*, 2011).

Por se desconhecerem os efeitos que podem advir da presença de antibióticos na água potável, nomeadamente o potencial risco para a saúde da população associado ao efeito, a longo prazo, da ingestão destes compostos, como também dos compostos resultantes da reação entre os vários compostos, este é considerado como um importante problema de saúde pública.

1.2 Relevância do estudo

A água é um bem essencial à sustentação da vida e, por essa razão, um abastecimento de água seguro, adequado e acessível deve estar disponível para todos. Porém, devido às diferentes pressões aplicadas aos recursos hídricos, o problema da disponibilidade e qualidade de água constitui uma das questões fundamentais do século XXI (Gaffney *et al.*, 2015).

Recentemente, uma das questões relativas à qualidade da água potável refere-se à presença de vários contaminantes, compreendendo compostos disruptores endócrinos (EDC), produtos de higiene pessoal (PCP) e compostos farmacêuticos, nos quais se incluem os antibióticos.

Apesar dos antibióticos serem produzidos na natureza por microrganismos, como bactérias e fungos (antibióticos naturais), a maioria destes compostos encontrados no ambiente são substâncias químicas produzidas pelo Homem (antibióticos sintéticos). Estes compostos farmacêuticos utilizados em medicina humana não são absorvidos pelo organismo, na sua totalidade. Após administrado, parte do composto é degradado e absorvido pelo organismo, ocorrendo a sua função farmacológica, a outra parte é excretada sem transformações ou na forma de metabolito através de fezes ou urina (Bound *et al.*, 2006).

A presença dos antibióticos, tal como a generalidade dos compostos farmacêuticos, nas origens de água, resulta principalmente de uma baixa eficiência dos sistemas de tratamento das Estações de Tratamento de Águas Residuais, sendo esta considerada a principal via de entrada no ambiente (Li *et al.*, 2014). Segundo Ternes (1998) e Santos *et al.*

(2009) as taxas de remoção destes compostos nos sistemas de tratamento convencionais instalados numa ETAR são muitas vezes baixas e podem variar muito (entre 0% e 90%) quando se consideram compostos farmacêuticos distintos e / ou diferentes ETAR. Além disso, características como a sua elevada solubilidade em água e, muitas vezes, baixa degradação, podem contribuir para a sua não remoção em ETAR (Grujić *et al.*, 2009). Os fármacos não removidos nas ETAR são encaminhados, no efluente tratado, para albufeiras, rios, estuários, e poderão, eventualmente, atingir águas subterrâneas e águas utilizadas para produção de água para consumo.

A maioria das pessoas opta por desfazer-se dos medicamentos fora de prazo eliminando-os através da rede de saneamento ou depositando-os nos contentores de resíduos sólidos indiferenciados, acabando por constituir uma via de contaminação importante (Jones *et al.*, 2001). Outras vias possíveis são a sua utilização a nível veterinário, na aquacultura, a lixiviação de terras fertilizadas e, ainda, as descargas provenientes das indústrias (Boxall *et al.*, 2012; Pal *et al.*, 2010). A figura 1.3 mostra as possíveis vias de entrada e contaminação dos compostos farmacêuticos no ambiente.

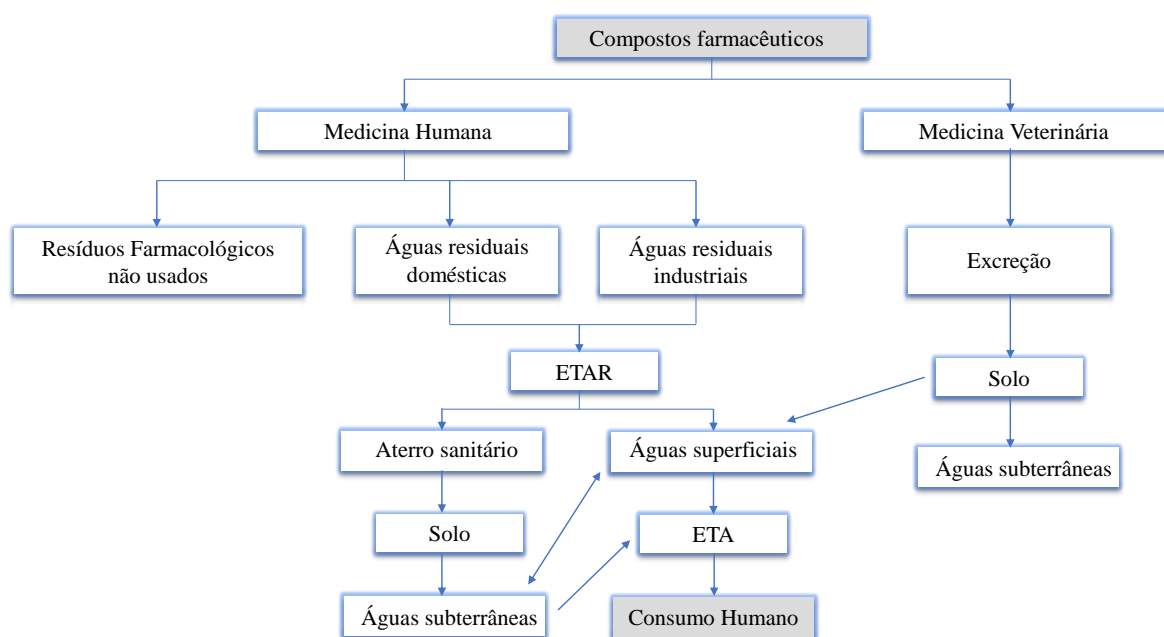


Figura 1.3: Possíveis vias de entrada e contaminação dos compostos farmacêuticos no ambiente (Adaptado de Santos *et al.*, 2010 e Moreno-Bondi *et al.*, 2009)

Tendo em consideração que os compostos farmacêuticos são desenvolvidos com o objetivo de afetar intencionalmente as funções bioquímicas em seres humanos e animais, possíveis riscos de exposição para a saúde humana são motivo de preocupação na comunidade científica e na população em geral, especialmente o caso de países que dependem fortemente das águas superficiais como origem de água potável (Houtman *et al.*, 2014). Além disso, os produtos farmacêuticos utilizados em medicina veterinária são excretados

no solo ou diretamente nas águas superficiais sem passar por uma ETAR, tornando seu controle e seguimento muito mais desafiadores (Rivera-Utrilla *et al.*, 2013).

Uma das grandes questões atuais relacionadas com a utilização excessiva ou inadequada de antibióticos em humanos e animais é o aceleração do aparecimento e propagação das bactérias resistentes aos antibióticos. A contínua introdução destes compostos no meio ambiente em níveis vestigiais podem causar resistência a populações de bactérias e consequentemente tornar ineficazes alguns tratamentos de doenças.

1.3 Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo a contribuição para o estudo da otimização dos sistemas de tratamento de água para consumo no que respeita à remoção de compostos farmacêuticos, nomeadamente os antibióticos. É também objetivo analisar a qualidade das origens de água utilizadas para produção de água para consumo humano, nomeadamente através do efeito que alguns antibióticos, não removidos pelas ETAR, poderão ter nos organismos aquáticos, assim como na saúde humana através da ingestão de água potável ou pelo aumento da resistência das bactérias aos antibióticos.

Em particular, pretende-se analisar três antibióticos de classes diferentes, avaliar a remoção destes compostos face aos diferentes sistemas de tratamento de águas e finalmente propor sistemas de tratamento mais adequados à sua remoção em estações de tratamento de águas (ETA).

1.4 Organização da dissertação

A dissertação encontra-se organizada em quatro capítulos. Para além deste capítulo introdutório, que contempla enquadramento geral, relevância do estudo e objetivos, os restantes podem ser resumidos do seguinte modo:

Capítulo 2 - Revisão Bibliográfica. É realizado um levantamento bibliográfico dos temas explorados para a realização da dissertação, relativamente à presença dos antibióticos em meios hídricos, as suas características na água, os seus efeitos tóxicos tanto em organismos aquáticos presentes nas origens de água, como na saúde humana através do consumo de água. São reconhecidos os sistemas de remoção da água, bem como as suas eficiências de remoção.

Capítulo 3 – Antibióticos Seleccionados. São apresentados os antibióticos analisados: Eritromicina, Ciprofloxacina e Sulfametoxazol. É realizada uma pesquisa e apresentam-se as suas características, consumo, efeitos ecotoxicológicos e eficiências de remoção da água associadas a diferentes sistemas de tratamento.

Capítulo 4 – Discussão e Conclusão. São retiradas conclusões face à informação obtida e são feitas propostas. São ainda sugeridos possíveis trabalhos futuros.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antibióticos

A palavra antibiótico começou por ser definida classicamente como um “composto formado por um microrganismo que inibe ou elimina o crescimento de outros microrganismos, tal como bactérias, fungos ou protozoários” (Kümmerer, 2009a). Todavia, ao longo dos anos, esta definição foi sofrendo alterações. Hoje em dia, é classificado como uma substância química natural ou sintética que apresenta atividade antibacteriana, antifúngica e antiparasitária.

A sua descoberta, por cientistas como Paul Ehrliche e Alexander Fleming, foi considerada o maior marco médico e científico do século XX, resultando na redução significativa das taxas de mortalidade e morbidade de doenças infecciosas socialmente e epidemiologicamente importantes, como tuberculose, sífilis, pneumonia, gonorreia e doenças transmissíveis da infância (Carvalho & Santos, 2016).

Os antibióticos podem ser agrupados pela sua estrutura química ou pelo seu mecanismo/modo de ação (MOA) (Kümmerer, 2009a). Segundo a sua estrutura química, podem agrupar-se em diferentes classes, tais como beta-lactâmicos, tetraciclinas, macrólidos, quinolonas, sulfonamidas, entre outros. Porém, dentro da mesma classe de antibióticos, mudanças muito pequenas na sua estrutura química podem influenciar a solubilidade e polaridade o que em certa medida irá manipular o seu destino ambiental (Kümmerer, 2009c). Na tabela 2.1 encontram-se as principais classes de antibióticos.

Tabela 2.1: Principais classes de antibióticos (Välitalo *et al.*, 2017)

Classe do antibiótico	Antibiótico	Abreviatura
Quinolonas	Enrofloxacina	ENR
	Ciprofloxacina	CIP
	Norfloxacina	NOR
Sulfonamidas	Sulfametazina	SMN
	Sulfametoxazol	SMX
	Sulfatiazol	STZ
Trimetoprim	Trimetoprim	TMP
Macrólidos	Claritromicina	CLA
	Eritromicina	ERY
	Azitromicina	AZM
Beta - lactâmicos	Amoxicilina	AMOX
	Ampicilina	AMP
Tetraciclina	Tetraciclina	TCN
	Oxitetraciclina	OTC

Devido à sua complexidade, os antibióticos podem apresentar diferentes funcionalidades na mesma molécula. Deste modo, diferentes valores de pH podem tornar os antibióticos neutros, catiónicos, aniônicos ou zwitteriônicos, podendo, por essa razão, sofrer alterações nas suas propriedades físico-químicas e biológicas (Kümmerer, 2009a). Este grupo de compostos farmacêuticos têm a capacidade de afetar as células procarióticas através de vários mecanismos de ação distintos, incluindo a inibição da síntese da parede celular, a inibição da síntese proteica ou a inibição da síntese do ácido nucleico (ADN / ARN). Os antibióticos são utilizados no tratamento de infeção bacteriana em seres humanos e alguns animais e são assim desenvolvidos para evitar ou limitar os efeitos sobre as células destes seres.

Nas últimas décadas, foi observado um aumento exponencial da produção e consumo de antibióticos a par com o desenvolvimento da sociedade. Segundo Van Boeckel *et al.* (2014), entre os anos 2000 e 2010, o consumo de antibióticos em 71 países aumentou cerca de 36% (de 54 083 964 813 unidades em 2000 para 73 620 748 816 unidades em 2010). O relatório “Estatística do Medicamento e produtos de saúde, 2014” elaborado pelo Infarmed, o qual é responsável pela monitorização do consumo de medicamentos em Portugal, indica que 72 093 221 unidades de antibióticos foram vendidas em 2014.

Também Portugal faz parte do projeto internacional “Vigilância Europeia do Consumo de Antimicrobianos” (ECDC, 2014). Este Projeto é coordenado pela universidade da Antuérpia, abrange 30 países, dos quais 28 são estados membros da Europa. O último relatório publicado em 2014, compreende informação sobre o consumo de antibióticos entre 2008 e 2012. A tabela 2.2 apresenta o consumo total de antibióticos na Europa entre os anos 2008 e 2012, com valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia (ECDC, 2014).

Tabela 2.2: Quantidade total de antibióticos consumidos na Europa em 2008-2012 (valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia) (Adaptado de ECDC, 2014)

País	2008	2009	2010	2011	2012	Média
Holanda	11,2	11,4	11,2	11,4	11,3	11,3
Estónia	11,9	11,1	11,1	12,1	11,6	11,6
Letónia	11,4	10,9	11,8	12,8	13,1	12,0
Hungria	15,2	16,0	15,7	14,7	13,8	15,1
Áustria	15,1	15,9	15,0	14,5	13,9	14,9
Suécia	14,6	13,9	14,2	14,3	14,1	14,2
Eslovénia	15,0	14,4	14,4	14,4	14,3	14,5
Alemanha	14,5	14,9	14,5	14,1	14,9	14,6
Lituania	25,1	19,5	17,7	19,0	16,2	19,5
Dinamarca	16,0	16,0	16,5	17,4	16,4	16,5
Noruega	15,5	15,2	15,8	16,5	16,9	16,0
República Checa	17,4	18,4	17,9	18,5	17,5	18,0
Bulgária	20,6	18,6	18,2	19,5	18,5	19,1
Finlândia	18,3	18,0	18,5	20,1	19,5	18,9
Polónia	20,7	23,6	21,0	21,9	19,8	21,4
Reino Unido	16,9	17,3	18,7	18,8	20,1	18,4
Espanha	19,7	19,7	20,3	20,9	20,9	20,3
Europa	21,0	20,9	20,9	21,5	21,5	21,2
Islândia	20,6	19,4	22,3	22,3	22,1	21,3
Malta	20,0	21,6	21,3	23,4	22,5	21,8
Portugal	22,6	22,9	22,4	23,2	22,7	22,8
Irlanda	22,4	20,8	20,3	22,6	23,0	21,8
Itália	28,5	28,7	27,3	28,2	27,6	28,1
Luxemburgo	27,1	28,2	28,6	27,6	27,9	27,9
França	28,0	29,6	28,2	28,7	29,7	28,8
Chipre	32,8	34,4	31,0	32,0	29,7	32,0
Bélgica	27,7	27,5	28,4	29,0	29,8	28,5
Roménia	-	10,2	-	30,9	30,4	-
Grécia	45,2	38,6	39,4	35,1	31,9	38,0

Os países do sul da Europa apresentam um maior consumo de antibióticos em comparação aos países do Norte de Europa (tabela 2.2). O consumo médio de antibióticos em Portugal (22,8 DDD/1000 habitantes/dia) está acima do valor médio Europeu (21,2 DDD/1000 habitantes/dia), sendo apenas ultrapassado pela Itália, Luxemburgo, França, Chipre, Bélgica e Grécia.

No mesmo estudo foram também analisadas as classes de antibióticos mais consumidos na Europa no decorrer do ano de 2012. Na figura 2.1 são apresentados os valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia para cada país participante no estudo (ECDC, 2014).

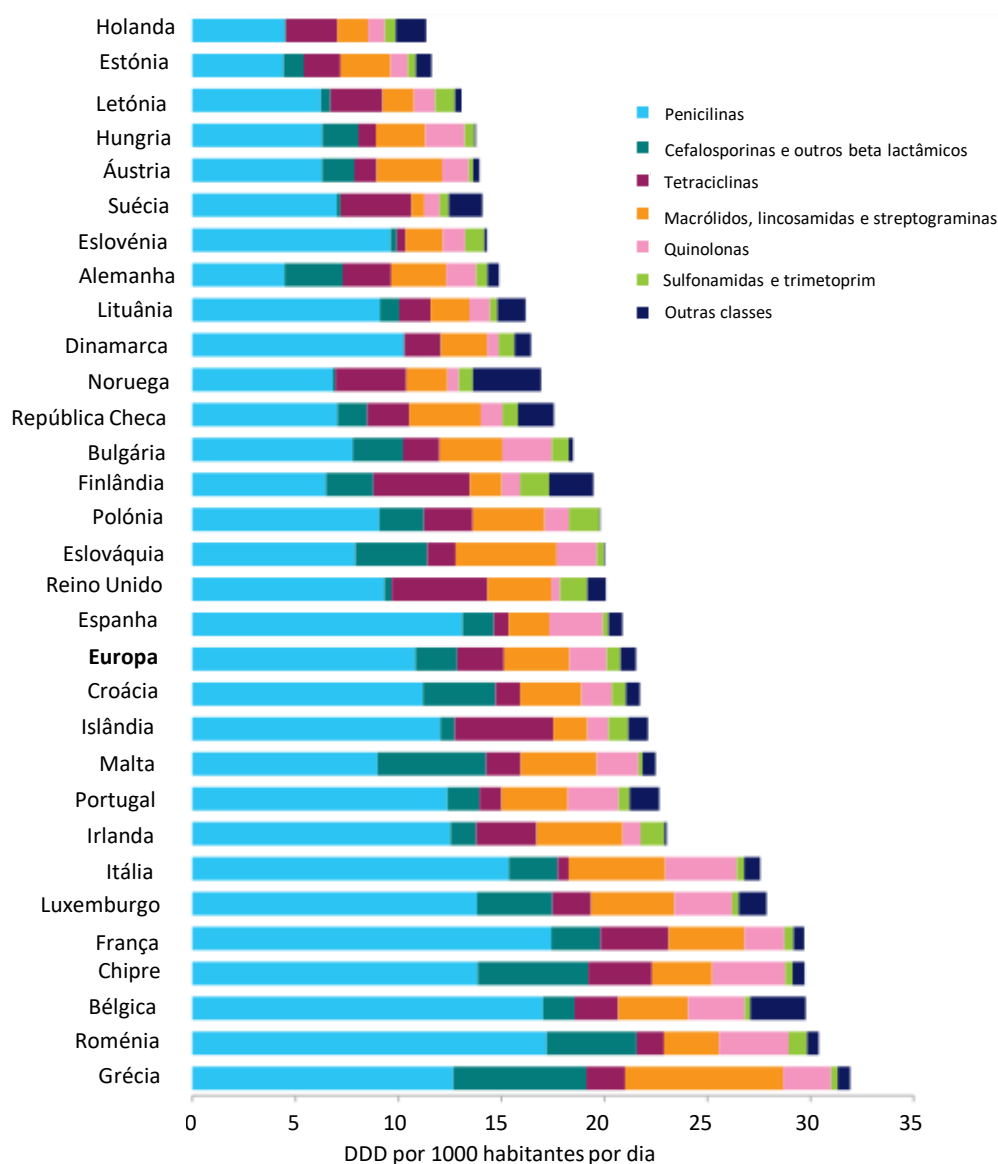


Figura 2.1: Classes de antibióticos mais consumidas na Europa em 2012 (valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia) (Adaptado de ECDC, 2014)

De acordo com a figura 2.1, as penicilinas são a classe de antibióticos mais consumida na Europa. No caso de Portugal, para além das penicilinas (Beta-lactâmicos) (12,4 DDD/1000 habitantes/dia), os macrólidos (3,2 DDD/1000 habitantes/dia) e as quinolonas (2,5 DDD/1000 habitantes/dia) são também muito consumidos.

De acordo com o Infarmed (2014) os antibióticos mais vendidos e consumidos em Portugal são a ciprofloxacina (fluoroquinolona), a azitromicina (macrólido), a claritromicina (macrólido), e a levofloxacina (fluoroquinolona).

2.2 Antibióticos no meio hídrico

Conforme referido anteriormente, a segurança da água constitui, atualmente, uma das questões globais mais urgentes, a par com o crescimento exponencial da população humana e consequente procura pelos escassos recursos hídricos. Desta forma, a presença de antibióticos nos recursos de água em concentrações vestigiais encontra-se entre as principais preocupações dos investigadores (Kolpin *et al.*, 2002; Vålitalo *et al.*, 2017).

Os antibióticos, inventados há quase 90 anos, revolucionaram a medicina humana. Hoje em dia, desempenham um papel crucial na gestão de doenças infecciosas e são consumidos extensivamente em medicina humana, veterinária e na aquacultura. Além das aplicações terapêuticas, os antibióticos são utilizados, por exemplo, para promover o crescimento de bovinos, porcos e aves de capoeira (Kümmerer, 2009c; Vålitalo *et al.*, 2017). O seu uso como promotores de crescimento foi proibido na União Europeia em 2006, como medida para reduzir potenciais riscos ambientais e humanos. Contudo, são ainda usados em algumas partes do mundo, como a China, Índia e Estados Unidos (Milić *et al.*, 2013).

Devido ao seu elevado consumo e com os avanços no desenvolvimento de instrumentos e técnicas analíticas, desde a última metade da década de 1980, permitiu-se a determinação de concentrações vestigiais de diferentes compostos farmacêuticos e seus metabolitos, em vários ecossistemas hídricos, como águas residuais, rios, lagos e águas subterrâneas nos países europeus, nos EUA e nos países asiáticos, incluindo o Japão (Kümmerer, 2009a; Kolpin *et al.*, 2002).

O facto de os antibióticos serem originalmente produzidos no ambiente, torna difícil assumir uma linha temporal de quando começaram a ser detetados em águas superficiais, no entanto, segundo Padhye *et al.* (2014), a sua deteção está diretamente relacionada com a localização dos pontos de descarga das ETAR e/ou variações das estações do ano.

Entre 1999 e 2000, Kolpin *et al.* (2002) detetaram várias classes de antibióticos em diferentes amostras de água de origem superficial (rios) provenientes de 30 estados dos Estados Unidos da América. Entre eles, identificaram-se tetraciclina (oxitetraciclina, tetraciclina e clorotetraciclina), sulfonamidas (sulfadimetoxina, sulfametazina, sulfametoxazol), macrolídeos (roxitromicina, claritromicina), fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina), lincomicina, trimetoprim e tilosina. Foram determinadas concentrações máximas tão altas quanto 1,9 µg/L para o antibiótico sulfametoxazol, e os compostos trimetoprim e eritromicina- H_2O (metabolito da eritromicina) apresentaram as maiores frequências de deteção, respetivamente 27,4% e 21,5%.

Também nos Estados Unidos, Yang & Carlson (2004) detetaram concentrações significativas de tetraciclina e sulfonamidas num rio no Colorado.

Hirsch *et al.* (1999) conduziram um estudo sobre a presença de alguns antibióticos importantes pertencentes às classes das tetraciclina, penicilina, sulfonamidas e macrólidos, nos efluentes de ETAR, em águas de superfície e águas subterrâneas na Alemanha

(tabela 2.3).

Tabela 2.3: Concentrações médias e máximas de antibióticos detetadas em diferentes amostras de água (Adaptado de Hirsch *et al.*, 1999)

Antibióticos	Efluente de ETAR		Água de superfície		Água subterrânea	
	Valor máximo ($\mu\text{g/L}$)	Valor médio ($\mu\text{g/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{g/L}$)	Valor médio ($\mu\text{g/L}$)	Valor máximo ($\mu\text{g/L}$)	Valor médio ($\mu\text{g/L}$)
Claritromicina	0,24	n.d	0,26	n.d	n.d	n.d
Eritromicina- H_2O	6,0	2,5	1,7	0,15	n.d	n.d
Roxitromicina	1,0	0,68	0,56	n.d	n.d	n.d
Sulfametoxazol	2,0	0,40	0,48	0,03	0,47	n.d
Trimetoprim	0,66	0,32	0,2	n.d	n.d	n.d
Sulfametazina	n.d	n.d	n.d	n.d	0,16	n.d

Dos 18 antibióticos analisados, apenas 5 foram detetados com alguma frequência nos efluentes de ETAR e águas superficiais. A concentração máxima nos efluentes de ETAR foi atingida pelo produto de degradação da eritromicina, com um valor de $6 \mu\text{g/L}$ e uma concentração média de $2,5 \mu\text{g/L}$. Os antibióticos roxitromicina, sulfametoxazol, trimetoprim e claritromicina apresentaram todos valores médios inferiores a $1 \mu\text{g/L}$.

Devido ao elevado caudal de descarga do efluente proveniente de ETAR nos rios, é natural que os antibióticos sejam também encontrados em águas superficiais (Hirsch. *et al.*, 1999). Este facto revela ainda que, apesar de em menores concentrações nas águas superficiais, os compostos farmacêuticos são persistentes e não são facilmente degradáveis no meio hídrico.

No mesmo estudo foram recolhidas várias amostras de água subterrânea em locais com presumível atividade agrícola, explorações de gado e campos com irrigação de águas residuais tratadas. De acordo com os resultados apresentados na tabela 2.3 as amostras de água demonstraram baixa contaminação, no entanto, em 4 das 8 amostras, resíduos de sulfonamidas foram quantificados. Uma amostra de água subterrânea próxima à área de irrigação exibiu uma concentração de sulfametoxazol de $0,47 \mu\text{g/L}$. A concentração de sulfametazina de $0,16 \mu\text{g/L}$ corresponde a uma amostra proveniente de uma área agrícola, provavelmente de aplicações veterinárias, já que este antibiótico não é usado em humanos (Hirsch. *et al.*, 1999).

Grujić *et al.* (2009) recolheram diversas amostras de água dos rios Danúbio, Sava e Tamiš, e do lago Ocaga, na Sérvia. Foram também recolhidas amostras de águas subterrâneas em diferentes locais de Belgrado e duas amostras de águas residuais. É importante referir que as cidades de onde foram recolhidas as amostras de água superficial não possuem estações de tratamento de águas residuais.

Neste estudo, foram analisados 19 compostos farmacêuticos, entre os quais, os antibióticos ampicilina, amoxicilina cefalexina, sulfametoxazol, trimetoprim, eritromicina,

azitromicina e doxiciclina. A tabela 2.4 apresenta as concentrações de dois dos antibióticos analisados das amostras recolhidas nos rios, águas subterrâneas e residuais.

Tabela 2.4: Concentrações dos antibióticos detetados nas amostras de água (Grujić *et al.*, 2009)

Amostra	Concentração (ng/L)	
	Trimetoprim	Azitromicina
Rio Danúbio	25	55
Rio Sava	-	-
Rio Tamis	24	36
Lago Ocaga	174	81
Água subterrânea	100	25 - 140
Água residual	-	150

O antibiótico azitromicina (classe dos macrólidos) foi detetado em 23% das amostras analisadas sendo considerado o mais problemático devido ao seu potencial para induzir resistência bacteriana. As concentrações variaram entre os 25 e os 140 ng/L e segundo o autor as concentrações são mais elevadas que as detetadas em águas superficiais em Espanha (até 20 ng/L) e nos EUA (até 77 ng/L).

O trimetoprim é geralmente combinado com o sulfametoxazol, constituindo um fármaco utilizado como antibiótico, denominado cotrimoxazol. Embora o sulfametoxazol não tenha sido detetado em nenhuma amostra de água analisada, o trimetoprim foi encontrado em 15% das amostras de água superficial e subterrânea, na faixa de concentração de 24-174 ng/L, apresentando também valores superiores aos reportados em Espanha, Reino Unido e Coreia do Sul.

As concentrações de antibióticos detetadas podem dever-se à falta de legislação e de normas da região. Além disso, pode também ser uma consequência da realidade local relativa à falta ou pouca eficiência dos sistemas de tratamento de águas residuais e o facto das águas residuais municipais terem contribuição de águas residuais industriais (Grujić *et al.*, 2009).

Lindsey *et al.* (2001) examinaram, igualmente, amostras de água subterrânea provenientes de vários locais dos E.U.A. O estudo pretendeu detetar a presença de antibióticos, nomeadamente as classes tetraciclina e sulfonamida, e das seis amostras de água subterrânea testadas, apenas uma revelou sulfametoxazol (0,22 µg/L). A deteção de antibióticos em águas subterrâneas levanta a preocupação do consumo direto destes compostos, uma vez que muitas vezes estas águas são consumidas com pouco ou nenhum tratamento.

No estudo realizado por Ye & Weinberg (2004) que teve como objetivo a determinação da ocorrência de antibióticos nas origens de água de diversas ETA, na Carolina do Norte, nos EUA, foram detetados, entre outros compostos, a ciprofloxacina, com concentrações que variaram entre os 8,3 e os 70 ng/L. O sulfametoxazol foi detetado com concentrações entre os 20 e os 60 ng/L, e o trimetoprim e a eritromicina em concentrações abaixo dos

20 ng/L. O facto da ciprofloxacina ser maioritariamente utilizada em medicina humana, parece indicar a importância e o impacto que as descargas das ETAR têm nas origens de água para consumo (Ye & Weinberg, 2004).

Leung *et al.* (2013) e Houtman *et al.* (2014) realizaram estudos semelhantes no que diz respeito à água para consumo. Ambos os estudos tiveram como objetivo investigar a ocorrência de compostos farmacêuticos na água potável e assim poder avaliar possíveis riscos para a saúde humana perante uma exposição contínua. As concentrações médias dos compostos farmacêuticos individuais detetados nas águas potáveis com origem no rio Reno, na Holanda (Houtman *et al.*, 2014) estão representadas na figura 2.2.

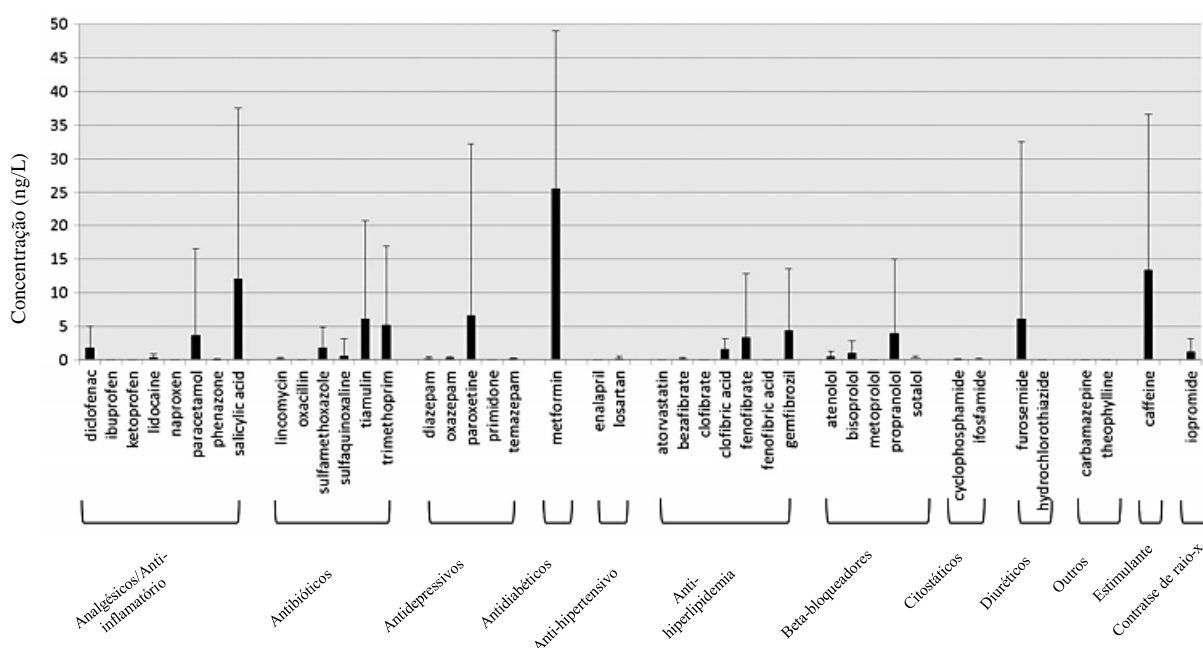


Figura 2.2: Concentrações médias dos compostos farmacêuticos detetados na água potável proveniente do rio Reno (Houtman *et al.*, 2014)

Os dados da figura 2.2 demonstram que, entre outros compostos farmacêuticos, os antibióticos tiamulina ($6,2 \pm 14,6$ ng/L) e trimetoprim ($5,1 \pm 11,8$ ng/L) apresentaram as concentrações médias mais elevadas na água para consumo, seguindo-se o sulfametoxazol ($1,8 \pm 3$ ng/L).

No estudo realizado por Leung *et al.* (2013) na China, foram detetados na água da torneira, 11 antibióticos usados em medicina humana e veterinária (figura 2.3). Cerca de 80 % das amostras recolhidas, correspondiam a água proveniente de sistemas de tratamento constituídos por coagulação/floculação, sedimentação, filtração e desinfecção, dos quais apenas o cloro, utilizado na desinfecção, reage seletivamente com produtos farmacêuticos que possuem ligações ricas em eletrões, como sulfonamidas e produtos farmacêuticos fenólicos.

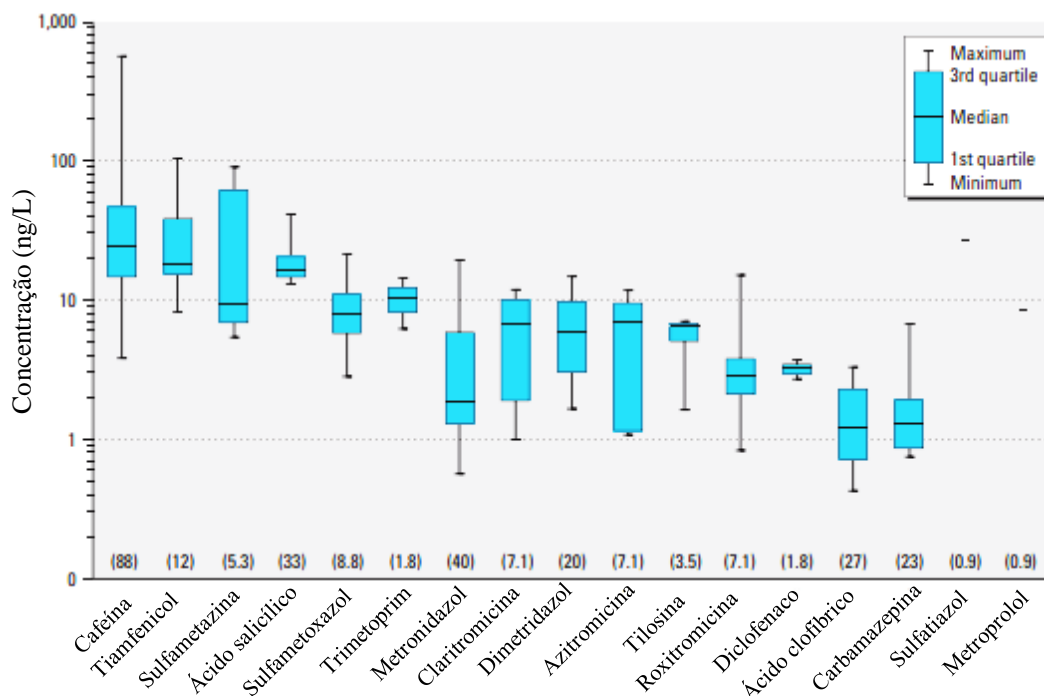


Figura 2.3: Concentrações médias dos 17 compostos farmacêuticos detetados na água da torneira, na China (Leung *et al.*, 2013)

Entre os antibióticos usados na medicina humana, foram detetados três macrólidos (claritromicina, 6,7 - 11,9 ng/L; roxitromicina, 2,8 - 15,1 ng/L; azitromicina, 7,1 - 11,7 ng/L) e o sulfametoxazol (8,0 - 21,3 ng/L) em 7,1 - 8,8 % das amostras.

Os dois medicamentos veterinários mais prevalentes - dimetridazol (média-máxima, 6,9 - 14,7 ng/L, frequência de detecção, 20 %) e metronidazol (1,8 - 19,3 ng/L; 40 %) não foram detetados em mais nenhuma água potável do mundo, além deste estudo reportado na província de Jiangsu. Os dois compostos têm um uso restrito em muitos países desenvolvidos devido ao seu poder carcinogénico em mamíferos. Países como Estados Unidos, Canadá e Austrália limitam o uso de dimetridazol em animais e a União Europeia (UE) proibiu a administração veterinária de ambos os compostos. Em contraste, o seu uso é autorizado para terapia em animais produtores de alimentos na China, embora os níveis de resíduos detetáveis em produtos alimentares sejam proibidos.

Os autores sugerem que a água da torneira constitui uma via adicional de exposição da população chinesa a compostos farmacêuticos que se encontram proibidos em já muitos países no mundo, aumentando o potencial risco para a saúde humana.

2.2.1 Antibióticos em Portugal

O estudo efetuado por Madureira *et al.* (2010) no rio Douro (figura 2.4), teve por objetivo averiguar a presença de compostos farmacêuticos no seu estuário. Procurando incluir classes de fármacos com diferentes propriedades físico-químicas, bem como diferentes comportamentos e persistência no ambiente, os autores investigaram os seguintes compostos: trimetoprim (TMP), propranolol (PHO), sulfametoxazol (SMX), carbamazepina (CBZ), diazepam (DZ) e o metabolito ativo do fenofibrato (F), fenofibricácido (FA).

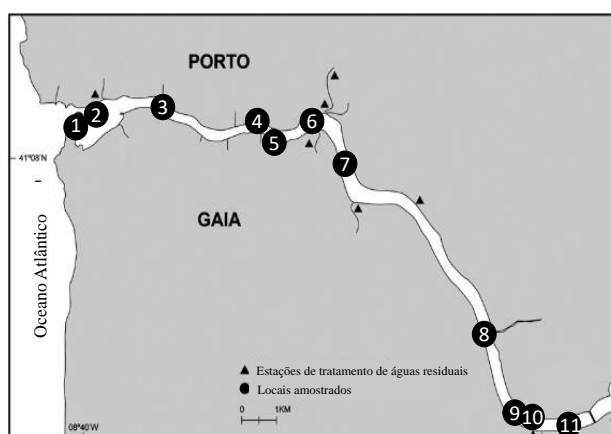


Figura 2.4: Localização dos locais de amostragem no estuário do rio Douro (Madureira *et al.*, 2010)

A distribuição espacial dos compostos farmacêuticos ao longo do estuário do rio Douro sugere uma tendência geral para concentrações mais elevadas no trecho inferior, o que pode ser explicado pela localização de duas das maiores ETAR (Sobreiras e Freixo) na área. Uma vez mais é demonstrado que as estações de tratamento de águas residuais têm um papel fundamental na presença de fármacos, através de descargas dos seus efluentes nas águas superficiais. As concentrações reportadas de sulfametoxazol (SMX), nos diferentes locais, são apresentadas na figura 2.5.

Os antibióticos sulfametoxazol (SMX) e trimetoprim (TMP) que são geralmente comercializados e utilizados em associação um com o outro (razão de 5:1), foram encontrados com frequências de deteção semelhantes nos locais de amostragem avaliados (33% -SMX e 34% -TMP), mas o intervalo de concentração para TMP variou de 3,89 ng/L a 15,7 ng/L, enquanto que as concentrações de SMX foram mais elevadas (9,14 ng/L a 38.5 ng/L).

Segundo os autores, vários artigos relataram a deteção de concentrações de SMX mais elevadas nas águas superficiais do Rio Grande no Novo México e no rio Llobregat, em Espanha. No entanto, neste estudo, e comparativamente a outros, foram observadas concentrações mais baixas, possivelmente devido a uma menor taxa de consumo de SMX na medicina humana e veterinária em Portugal e / ou devido a outras causas, tais como a possível existência de sistemas de tratamento de águas residuais comparativamente mais eficientes (Madureira *et al.*, 2010). Além disso, uma maior taxa de diluição no estuário

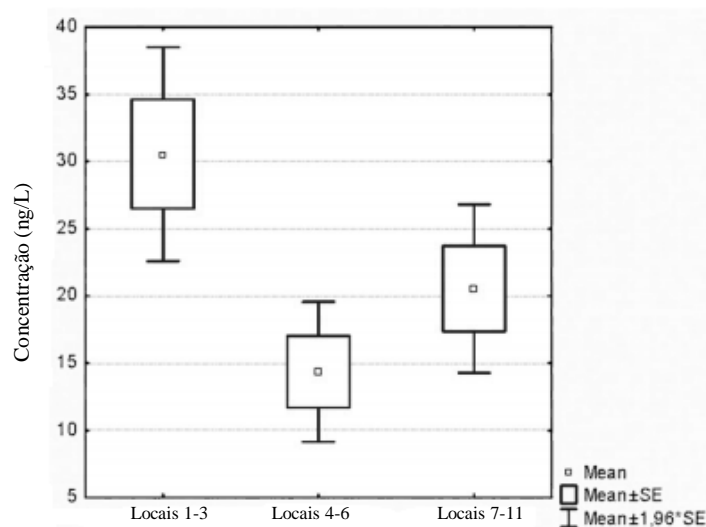


Figura 2.5: Concentrações do antibiótico sulfametoxazol detetadas nos diferentes locais (Madureira *et al.*, 2010)

do rio Douro devido à influência das marés ou a descarga da barragem também poderão estar na origem das menores concentrações detetadas.

Num estudo realizado por Gaffney *et al.* (2015) foi estudado o sistema de fornecimento de água de Lisboa pela responsabilidade da EPAL (Empresa Portuguesa das Águas Livres S.A.), onde 31 compostos farmacêuticos foram monitorizados. A EPAL é responsável pela produção e distribuição de água de consumo em 35 municípios para além da cidade de Lisboa, sendo considerada a maior companhia deste género em Portugal. É importante referir que o sistema de abastecimento de água da EPAL está dependente de duas fontes de água superficial (rios Tejo e Zêzere) e 20 fontes de água subterrânea, que contribuem com, aproximadamente, 90% e 10% para a produção de água potável, respetivamente.

O programa de monitorização compreendeu cinco pontos de amostragem para controlar as origens de água e quinze pontos de amostragem de água potável, incluindo a saída das ETA adjacentes aos rios Tejo e Zêzere, assim como o sistema de distribuição até à torneira do consumidor.

Entre outras classes de compostos farmacêuticos, os antibióticos selecionados para estudo foram: ciprofloxacina, eritromicina, sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina, sulfametoxazol, sulfapiridina e sulfatiazol. Na figura 2.6 estão representadas as concentrações detetadas nas diferentes origens de água utilizadas pela EPAL para produção de água potável.

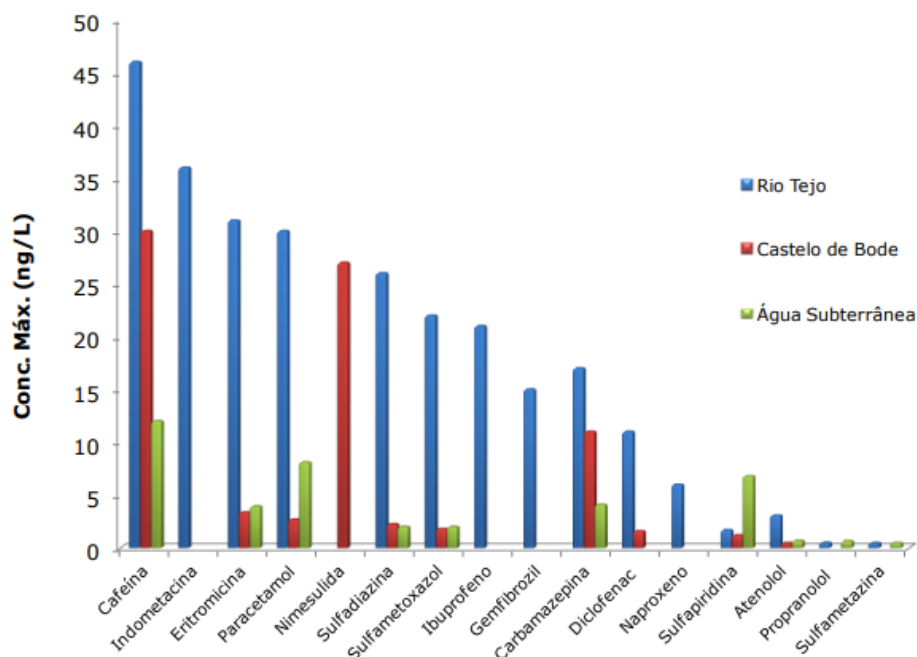


Figura 2.6: Concentrações máximas dos compostos farmacêuticos quantificados nas diferentes captações da EPAL, captações superficiais (Tejo e Castelo de Bode) e captações subterrâneas (poços das Lezírias, poços da OTA e poços de Alenquer) (Gaffney *et al.*, 2016)

Dos antibióticos seleccionados para o estudo foram detetados, nas amostras de água, a eritromicina, sulfadiazina, sulfametazina, sulfametoxazol e sulfapiridina, sendo o antibiótico sulfametazina o único que não foi encontrado em todos os tipos de amostras.

O rio Tejo é, entre todas as fontes, o que apresenta maiores concentrações dos compostos estudados, estando em concordância com o facto de ser um rio recetor de várias descargas de efluentes provenientes de ETAR (Gaffney *et al.*, 2015).

Os pontos de amostragem de água potável escolhidos representam as diferentes características da água resultante da mistura de água tratada de diferentes origens. A figura 2.7 apresenta a percentagem de deteção dos fármacos nas fontes de água, bem como os compostos detetados no sistema de distribuição de água após a sua passagem pela ETA.

Após o tratamento de água, oito dos compostos detetados nas origens de águas foram removidos na sua totalidade. Apenas a cafeína, a carbamazepina, o atenolol, a sulfadiazina, a sulfapiridina, o sulfametoxazol e a eritromicina foram encontrados na água potável, com as sulfonamidas quantificadas em 0,9% (sulfadiazina), 0,5% (sulfapiridina) e 2,4% (sulfametoxazol) das amostras. A eritromicina foi o antibiótico mais detetado nas águas de consumo (8%). A sua concentração variou entre 1,3 ng/L e 31 ng/L nas captações e entre 0,09 ng/L e 5,0 ng/L nas águas para consumo.

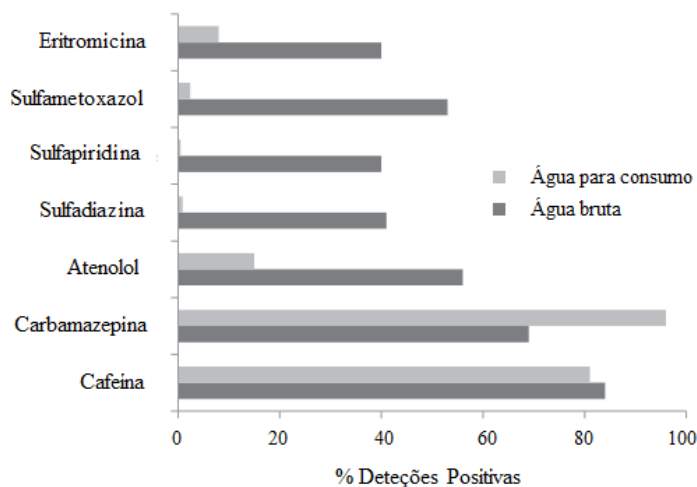


Figura 2.7: Percentagem de detecções positivas para os compostos farmacêuticos detetados tanto nas amostras de água bruta como na água para consumo (Gaffney *et al.*, 2015)

Segundo os autores do estudo, os antibióticos sulfametoxazol e sulfadiazina podem constituir indicadores relativamente à qualidade da fonte de água ou das tecnologias de tratamento na ETA. Tendo em conta que estes dois antibióticos são suscetíveis à cloração, encontrá-los na água potável, pode significar um tratamento de cloração ineficaz e / ou deterioração da qualidade da origem de água e, portanto, deve ser realizada a verificação das condições de operação na ETA (Gaffney *et al.*, 2015).

2.3 Características e comportamentos

2.3.1 Metabolismo e Excreção

Geralmente, após a ingestão, os compostos farmacêuticos (antibióticos) são absorvidos pelo organismo, metabolizados e posteriormente excretados. A metabolização faz parte de um processo que permite aos compostos tornarem-se mais hidrófilos e, portanto, serem mais facilmente excretados através da urina (Santos *et al.* 2010). Este processo pode contemplar duas fases (Fase I e Fase II) e daí resultar um ou mais metabolitos (figura 2.8).

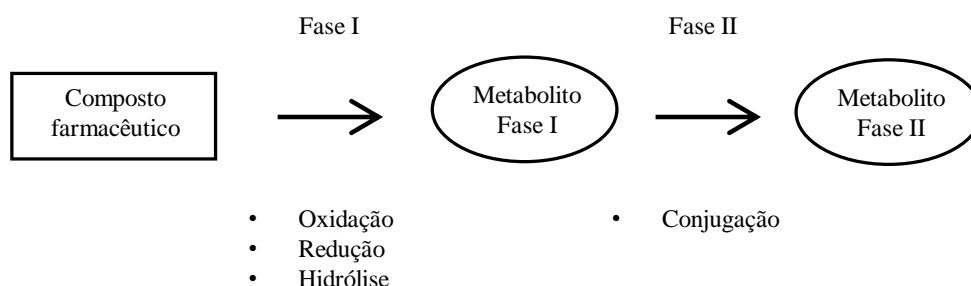


Figura 2.8: Representação esquemática da biotransformação dos compostos farmacêuticos para aumentar a sua polaridade (adaptado de Santos *et al.*, 2010)

Durante a Fase I o composto farmacêutico original sofre reações de oxidação, redução e hidrólise com o objetivo de modificar a sua estrutura molecular através da introdução de grupos funcionais mais recetivos às reações de fase II. Na etapa seguinte (reações de conjugação) conjugam-se os metabolitos da fase I ou fármaco original com grupos endógenos polares, como o ácido glucurónico, o sulfato ou a glutatona, no qual resultará em conjugados mais facilmente excretados (Santos *et al.* 2010).

Apesar de tudo, a transformação do composto original em metabolitos pode não ocorrer completamente e por isso, parte do fármaco pode ser excretada na sua forma inalterada em conjunto com os seus metabolitos. A tabela 2.5 apresenta a percentagem de antibióticos excretados na sua forma original após a metabolização por parte do organismo.

Tabela 2.5: Percentagem de antibióticos excretados na sua forma original após a metabolização por parte do organismo (Adaptado de Hirsch *et al.*, 1999 e Mompelat *et al.*, 2009)

Antibiótico	Excreção na forma original (%)
Amoxicilina	80 - 90
Trimetoprim	60
Sulfametoxazol	15
Ciprofloxacina	50 - 70
Eritromicina	25
Tetraciclina	80 - 90
Claritromicina	25 - 40
Norfloxacina	30

2.3.2 Antibióticos e a sua degradação no ambiente

Após a sua administração, os antibióticos de uso humano e os seus metabolitos são excretados pelo organismo, tendo como destino a estação de tratamento de águas residuais (ETAR), onde apenas são parcialmente eliminados. Nesta fase os compostos podem sofrer transformações estruturais resultantes de processos tecnológicos, como oxidação, hidrólise ou fotólise. São, consequentemente, introduzidos no ambiente onde, tanto os compostos parentais como os metabolitos, podem sofrer mudanças estruturais similares às da

ETAR através de uma variedade de processos bióticos e abióticos (Escher & Fenner, 2011). Os compostos farmacêuticos podem ser incompletamente transformados por organismos, como bactérias e fungos no ambiente (biotransformação), bem como por processos químicos ligeiros e abióticos (Kümmerer, 2010). A tabela 2.6 apresenta a suscetibilidade de algumas classes de antibióticos a diferentes processos de remoção ou degradação que ocorrem no ambiente.

Tabela 2.6: Suscetibilidade de classes de antibióticos a processos de remoção / degradação no ambiente (Adaptado de Harris *et al.*, 2012 e Kümmerer, 2009a)

Remoção/ Degradação	Penicilina	Macrólidos	Tetraciclinas	Quinolonas/ Fluoroquinolonas	Sulfonamidas
Fotólise	x	x	x	√	√
Hidrólise	√	-	√	x	x
Termólise	√	-	-	x	-
Sorção	√	√	√*	√	x
Biotransformação	√	x	x	x	x
Condições anaeróbias	-	-	-	x	-

√ - é suscetível; √* - é fracamente suscetível; x - não é suscetível; "-" - não há informação

Os produtos de transformação (biotransformação) podem exercer efeitos pelo mesmo modo de ação que os seus compostos originais, ou podem exibir menor toxicidade (basal) aquando a sua transformação. Em casos raros, a transformação pode criar novos toxicóforos, que podem levar a (maior) toxicidade pelo modo de ação similar ou diferente (Escher & Fenner, 2011).

A presença de compostos farmacêuticos nas águas superficiais é, também, afetada pelas estações do ano. Amostras de água recolhidas no inverno e no outono - quando a temperatura é mais baixa e a luz solar é menos intensa - mostra concentrações significativamente maiores de produtos farmacêuticos. Isto deve-se, principalmente, às limitações quer na fotólise, quer na reprodução de bactérias que facilitam a decomposição de produtos farmacêuticos (Szymonik *et al.*, 2017).

Apesar dos compostos de fluoroquinolonas serem insensíveis à hidrólise, de acordo com Harris *et al.* (2012), os resíduos presentes em águas são maioritariamente degradados por fotólise. Este é, porém, um processo lento que resulta em longos períodos de residência ambiental. Xu *et al.*, 2009 determinou tempos de meia-vida (período de tempo em que a concentração do composto fica reduzida à sua metade) de 3-12 dias sob radiação solar para o antibiótico ofloxacina em águas superficiais. No entanto, num estudo realizado por Vasconcelos *et al.* (2009), a ciprofloxacina apresentou taxas muito altas de fotodegradação com meias vidas de 0.15, 0.77 e 0.38 horas para pH 7, 5 e 9 respetivamente (Harris *et al.*, 2012).

Segundo Baran *et al.* (2012), a maioria dos investigadores reconhece o grupo das sulfonamidas como compostos pouco ou não biodegradáveis, com valores de meia-vida na

faixa de poucos dias a dezenas de dias. O sulfametoxazol, a sulfadiazina e a sulfacloropiridazina são considerados mais resistentes à biodegradação, enquanto o sulfatiazol ou a sulfametazina são menos resistentes (Baran *et al.*, 2012).

Pode observar-se na tabela 2.6 que a maioria das classes de antibióticos não são suscetíveis à biotransformação, o que quer dizer que uma exposição elevada em águas superficiais poderá conduzir a uma acumulação nos tecidos animais (bioacumulação).

Segundo Gao *et al.*, 2012, os produtos químicos são bioacumuláveis quando o seu fator de bioacumulação (BAF) é superior a 5000 L/kg e potencialmente bioacumulável se o seu BAF variar entre 2000 - 5000 L/kg. Estudos realizados por Gao *et al.*, 2012 e Li *et al.* 2012, demonstraram que o composto enrofloxacin foi bioacumulado por camarões e caracóis de água doce com BAF médios de 16 700 e 6 140 L/kg, respetivamente. Os antibióticos enrofloxacin, ciprofloxacina e sarafloxacin foram considerados potencialmente bioacumuláveis por caranguejos e três espécies diferentes de carpas (peixe). Também em plantas hidrófitas foi observado bioacumulação do antibiótico ciprofloxacina. Estas plantas são capazes de metabolizar a enrofloxacin pelo que as BAF observadas foram inferiores.

A distribuição dos compostos farmacêuticos no ambiente (solo/sedimentos/água) é definida pelas propriedades físico-químicas de cada antibiótico, como é exemplo, estrutura molecular, tamanho e solubilidade. A solubilidade permite aos compostos desempenhar um papel importante na sua mobilidade em todo o ambiente aquático (Kemper, 2008). Com base nos valores de pKa e $\log K_{ow}$ (coeficiente de partição octanol-água), normalmente usado para descrever hidrofobicidade, os compostos podem ser classificados como hidrófilos neutros, hidrófilos iónicos, hidrofóbicos iónicos e hidrófobos neutros. Segundo, Quintanilla *et al.* (2009) compostos com valor $\log K_{ow} \geq 2$ são referidos como compostos hidrofóbicos e aqueles com $\log K_{ow} < 2$ são classificados como hidrofílicos.

2.4 Efeitos ecotoxicológicos dos antibióticos

Atualmente, as vantagens que os antibióticos apresentam na saúde humana ou animal são incontestáveis, no entanto, as suas propriedades bioativas e a sua presença no ambiente em níveis vestigiais suscitam preocupações quanto à sua toxicidade em organismos *non-target* (Väitalo *et al.*, 2017). De facto, a contínua libertação de produtos químicos das últimas décadas pode induzir toxicidade, e a bioacumulação e biomagnificação de contaminantes podem dar origem a efeitos indesejáveis a longo prazo (Pereira, 2015).

Com a necessidade de avaliar a influência dos antibióticos em comunidades ecológicas nos meios hídricos, foi essencial o desenvolvimento de sistemas de avaliação de riscos ambientais através de dados ecotoxicológicos (Jones *et al.*, 2004).

Os testes de toxicidade biológica ou bioensaios são utilizados na avaliação de risco de substâncias prejudiciais e há um elevado número de métodos disponíveis para diferentes organismos, variando entre testes agudos e testes crónicos (Kümmerer, 2009c).

2.4. EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DOS ANTIBIÓTICOS

Este tipo de testes (ecotoxicológicos) são ferramentas que permitem avaliar o comportamento de um químico presente no ambiente, e o seu efeito (letal ou não-letal) em espécies que não o Homem. A sensibilidade dos organismos a um contaminante estima-se pelos efeitos relacionados com alterações no crescimento, mortalidade, reprodução, patologias, comportamento e distribuição e abundância dos organismos (Preston, 2002).

Os testes de toxicidade aguda proporcionam respostas rápidos, que normalmente se caracterizam por períodos de exposição entre 24 e 96 horas e ocorrem em concentrações mais elevadas. No entanto, e devido aos níveis baixos (mas contínuos) de produtos farmacêuticos introduzidos no ambiente, estes testes são considerados insatisfatórios por muitos investigadores. Por outro lado, os testes crónicos apresentam um cenário mais próximo da realidade. Os efeitos que ocorrem são mais prováveis, mas estudos deste tipo podem demorar vários anos para comprovar a questão de forma conclusiva (Jones *et al* 2004). Na tabela 2.7 são apresentados os testes e efeitos de toxicidade aguda e crónica.

Tabela 2.7: Testes e efeitos de toxicidade aguda e crónica

Toxicidade	Testes	Expectativa	Efeitos
Aguda	EC_{50} (<i>effective concentration</i>)	Concentração em que 50 % dos organismos sofrem algum tipo de efeito	Crescimento, mobilidade, luminescência
	LC_{50} (<i>lethal concentration</i>)	Concentração em que 50 % dos organismos acabam por morrer	Morte
Crónica	NOEC (<i>No observed effect concentration</i>)	Concentração em que não são esperados efeitos	-
	LOEC (<i>Lowest observed effect concentration</i>)	Concentração em que começa a introduzir alterações	Crescimento, metabolismo, reprodução

Segundo Magdaleno *et al.* (2015), a Diretiva da UE 93/67 / CEE classifica as substâncias de acordo com os seus valores EC_{50} para organismos aquáticos, como se segue: muito tóxico ($EC_{50} < 1$ mg/L), tóxico (EC_{50} : 1-10 mg/L) e prejudicial (EC_{50} : 10-100 mg/L).

Geralmente, para os compostos farmacêuticos, a gama de animais utilizados em bioensaios é restrita, notando-se uma grande utilização de espécies de peixes e algas. Segundo Vålitalo *et al.* (2017), os microrganismos aquáticos mais comumente aplicados para o teste de ecotoxicidade dos antibióticos são as cianobactérias, a proteobactéria *Vibrio fischeri* e diferentes espécies de microalgas e algas verdes. É de notar, no entanto, que devido ao facto da gama de espécies ser restrita, existe uma incerteza acerca dos reais efeitos que podem existir no ambiente em animais *non-target*. Além disso, variações entre espécies, como o grau de maturidade e o sexo, podem resultar em diferentes doses de respostas e níveis de sensibilidade para os mesmos testes realizados (Jones *et al*, 2004).

Baumann *et al.* (2015) conduziram um estudo com o objetivo de testar os eventuais efeitos adversos que o antibiótico claritromicina e seus metabolitos teriam em diversas comunidades aquáticas (tabela 2.8). A claritromicina é um antibiótico com baixa solubilidade em água e é um dos mais frequentemente detetados em rios. Até 40% do total

consumido é excretado pelo organismo na sua forma original e cerca de 60% na forma metabolizada (Kümmerer, 2009).

Tabela 2.8: Espécies e parâmetros avaliados nos testes de toxicidade aguda e crónica (Baumann *et al.*, 2014)

Toxicidade	Espécie		Duração do teste	Parâmetro de avaliação	Parâmetro de medição
Aguda	Embrião de peixe	<i>Danio rerio</i>	48 h	Mortalidade	EC50
	Alga verde	<i>D. subspicatus</i>	72 h	Crescimento	EC50
	Cianobactéria	<i>Anabaena f. aquae</i>	72 h	Crescimento	EC50
	Crustáceo planctónico	<i>Daphnia magna</i>	48 h	Mobilidade	EC 50
Crónica			21 dias	Reprodução	NOEC
	Macrófita aquática	<i>Lemna minor</i>	7 dias	Crescimento	NOEC

De maneira a avaliar os efeitos tóxicos (agudos e crónicos) da claritromicina e seus compostos, foram realizados testes em crustáceos, embriões de peixe, macrófitas aquáticas, algas verdes e cianobactérias. Os resultados são apresentados na tabela 2.9.

Tabela 2.9: Resultados dos testes de toxicidade aguda e crónica (Adaptado de Baumann *et al.*, 2014)

Toxicidade	Espécie	Claritromicina ($\mu\text{g/L}$)	14-hidroxi-claritromicina ($\mu\text{g/L}$)	N-desmetil-claritromicina ($\mu\text{g/L}$)
Aguda	<i>Danio rerio</i>	$EC_{50} > 2000$	$EC_{50} > 2000$	$EC_{50} > 2000$
	<i>Daphnia magna</i>	$EC_{50} > 2000$	$EC_{50} > 2000$	$EC_{50} > 700$
	<i>D. subspicatus</i>	$EC_{50} = 32,1$	$EC_{50} = 32,6$	$EC_{50} = 239,2$
	<i>Anabaena f. aquae</i>	$EC_{50} = 5,6$	$EC_{50} = 10,2$	$EC_{50} = 39,9$
Crónica	<i>Daphnia magna</i>	NOEC > 2100	NOEC > 850	NOEC = 150 LOEC = 750
	<i>Lemna minor</i>	NOEC > 1900	-	-

A suscetibilidade entre as espécies testadas à claritromicina e aos seus dois metabolitos diferiu consideravelmente. A claritromicina e o metabolito 14-hidroxiclaritromicina não apresentaram efeitos tóxicos nos embriões de peixe e nos crustáceos até às concentrações aplicadas mais elevadas (2 mg/L). Por outro lado, verificou-se uma elevada toxicidade para os organismos fotoautotróficos (*D. subspicatus* e *Anabaena f. aquae*), exceto no caso da *Lemna minor* que não apresentou sensibilidade.

O metabolito farmacologicamente inativo N-desmetilclaritromicina revelou-se menos tóxico que a claritromicina.

Perante os resultados do bioensaio é de salientar o facto do macrólido estudado, claritromicina, que geralmente afeta o crescimento de bactérias Gram-positivas, interferindo na sua síntese proteica, ser muito tóxico para as cianobactérias. Esta informação torna-se consistente tendo em consideração que as bactérias são os organismos alvo dos antibióticos.

Johnson *et al.* (2015) compararam e avaliaram a proximidade a que as concentrações de certos antibióticos presentes nos rios europeus se encontram de níveis de toxicidade aguda reportados na literatura. Os antibióticos analisados foram a ciprofloxacina, o sulfametoxazol, o trimetoprim e a eritromicina.

Segundo o estudo, os quatro antibióticos analisados parecem provocar pouca ou nenhuma toxicidade aos peixes ou nas espécies de *Daphnia*. Todavia, as plantas aquáticas apresentaram ligeiros efeitos nocivos, sendo os organismos mais sensíveis ao sulfametoxazol. As cianobactérias e as algas verdes constituem o grupo das espécies com mais sensibilidade aos antibióticos ciprofloxacina e eritromicina com concentrações tóxicas nas dezenas de µg/L.

Chegou-se à conclusão que as concentrações de ciprofloxacina e eritromicina nos rios estão mais próximas dos níveis de toxicidade, ainda assim com 2 ordens de grandeza inferiores. O trimetoprim parece ser a menor das preocupações, com concentrações previstas de cerca de 6 ordens de magnitude abaixo dos níveis de efeito nas algas, seguindo-se o sulfametoxazol com uma diferença de magnitude de 3 ordens (Johnson *et al.*, 2015).

Aparentemente, as concentrações de antibióticos detetadas nos rios europeus foram todas abaixo dos níveis de efeito mediano das espécies mais sensíveis. Isto indica que os antibióticos nos seus atuais níveis de consumo não estão a representar uma ameaça tóxica aguda generalizada para a fauna e flora aquática europeia.

Diferentes classes de antibióticos têm sido detetadas, em simultâneo, no ambiente e consequentemente os organismos aquáticos podem encontrar-se expostos, não apenas a uma única substância, mas a misturas destes compostos farmacêuticos. Embora as concentrações individuais de antibióticos em ambientes aquáticos possam ser reduzidas, as concentrações combinadas podem resultar em toxicidade significativa para os organismos aquáticos. Além disso, como produtos químicos numa mistura, os antibióticos podem ou não interagir de forma sinérgica ou antagónica, sendo essencial investigar as potenciais interações das misturas de antibióticos de diferentes classes.

González-Pleiter *et al.* (2013) examinaram os níveis de toxicidade individuais e combinadas dos antibióticos amoxicilina (AMO) (0,01 - 1500 mg/L), eritromicina (ERY) (0,001 - 10 mg/L), levofloxacina (LEV) (0,01 - 200 mg/L), norfloxacina (NOR) (0,01 - 100 mg/L) e tetraciclina (TET) (0,01 - 100 mg/L) em dois organismos representativos do ambiente aquático. A cianobactéria *Anabaena sp.*, como organismo alvo, e a alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata*, como organismo *non-target*. A tabela 2.10 apresenta dados referentes aos testes de toxicidade individuais, nomeadamente valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} , concentrações que induzem efeitos nos organismos de 10%, 20% e 50%, respetivamente.

Tabela 2.10: Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} na experiência de toxicidade individual (mg/L)

Antibiótico	Espécie					
	<i>P. subcapitata</i> (alga verde)			<i>Anabaena sp.</i> (cianobactérias)		
	EC_{10}	EC_{20}	EC_{50}	EC_{10}	EC_{20}	EC_{50}
AMO	>1500	>1500	>1500	6,16	15,1	56,3
ERY	0,036	0,082	0,35	0,005	0,009	0,022
LEV	0,93	4,5	>120	1,1	1,9	4,8
NOR	10,9	20,6	>80	1,2	2,1	5,6
TET	0,032	0,1	3,31	2,5	3,5	6,2

Para os testes realizados individualmente, os valores EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} verificam diferentes sensibilidades para cada organismo e consoante o antibiótico a que foi submetido.

Após uma exposição de 72 h à amoxicilina, a alga verde *P. subcapitata* não mostrou efeito em concentrações até 1500 mg/L, indicando que este antibiótico não será tóxico para a alga verde. A exposição à eritromicina revelou valores de EC_{50} muito baixos pelo que é considerado um dos mais tóxicos para a alga verde em questão. Com base nos valores EC_{10} e EC_{20} , o antibiótico levofloxacina foi mais tóxico do que norfloxacina para a alga verde, entanto, observou-se que para valores de EC_{50} a norfloxacina apresentou uma maior toxicidade que a levofloxacina. A tetraciclina é um dos antibióticos analisados com maior toxicidade para a *P. subcapitata*, a par com a eritromicina.

Em relação à cianobactéria, *Anabaena sp.*, os valores EC_{50} variaram entre 0,022 mg/L e 56,3 mg/L com uma ordem de toxicidade da seguinte forma: ERY > LEV > NOR > TET > AMO. Tanto no caso da cianobactéria como no caso da alga verde, a eritromicina foi o antibiótico mais tóxico.

De uma forma geral, a *Anabaena sp.*, devido à sua natureza procariótica, foi o organismo que sofreu maior sensibilidade aos antibióticos testados.

De uma maneira global, nas interações antibióticas (tabela 2.11), para a alga verde, *P. subcapitata*, predominou o sinergismo, ou seja, observou-se um efeito adicional comparativamente ao uso individual dos antibióticos. O padrão global de interações que surgiu na cianobactéria mostrou que em níveis de efeito muito baixos (EC_{10}), o antagonismo predominou na maioria das misturas binárias, com exceção de três misturas com tetraciclina: TET-AMO, TET-ERY e TET-LEV, que foram sinérgicas. Nos níveis de efeito mais elevado (EC_{50}), a tendência é semelhante ao observado na alga verde *P. subcapitata* e o sinergismo torna-se a interação predominante.

Para ambos os organismos, a combinação ERY-TET mostrou forte sinergia em níveis de efeito baixos demonstrando que poderá ser uma combinação bastante tóxica no ambiente, mesmo quando ambos os antibióticos estão presentes em concentrações muito baixas. Adicionalmente, as combinações sinérgicas AMO-TET e LEV-TET podem ser potencialmente perigosas para a cianobactéria e a LEV-NOR para a alga verde.

2.4. EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS DOS ANTIBIÓTICOS

Tabela 2.11: Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} na experiência de toxicidade combinada (mg/L)

Antibióticos	<i>P. subcapitata</i> (alga verde)			<i>Anabaena</i> sp. (cianobactérias)		
	EC_{10}	EC_{20}	EC_{50}	EC_{10}	EC_{20}	EC_{50}
ERY + LEV	1,3	23	20,4	0,87	1,3	2,5
ERY + NOR	3	5,8	18,2	0,96	1,7	4,5
ERY + TET	0,0046	0,021	0,27	0,28	0,67	3
LEV + NOR	1,1	2,9	15	1,3	2	4,3
LEV + TET	0,34	0,89	4,6	0,37	0,63	1,6
NOR + TET	1,9	3,5	9,2	1,9	2,7	5,1
ERY+LEV+ NOR+TET	1,7	3,9	16	-	-	-
AMO + ERY	-	-	-	9,4	16,2	41
AMO + NOR	-	-	-	8,9	14,5	33,1
AMO + LEV	-	-	-	7,7	11,4	22,4
AMO + TET	-	-	-	1,8	2,9	6,5
ERY + LEV + NOR + TET + AMO	-	-	-	5,2	7,2	12,4

As misturas multi-antibióticas também foram sinérgicas em diversos níveis indicando um aumento da toxicidade quando todos os antibióticos analisados estão presentes.

Ebert *et al.* (2011) avaliaram a sensibilidade de uma variedade de organismos fotoautotróficos à presença de duas fluorquinolonas (FQ) quantificando a toxicidade seletiva dos compostos Enrofloxacin e Ciprofloxacin (tabela 2.12).

Tabela 2.12: Toxicidade dos compostos enrofloxacin e ciprofloxacin em organismos foto autotróficos (Ebert *et al.*, 2011)

Espécie		Enrofloxacin		Ciprofloxacin	
		NOEC (μ g/L)	EC_{50} (μ g/L)	NOEC (μ g/L)	EC_{50} (μ g/L)
Cianobactéria	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	19,1	173	5,65	10,2
Alga verde	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	500	5 568	>8 042	>8 042
Macrófitas aquáticas	<i>Lemna minor</i>	30	107	10	62,5
	<i>Myriophyllum spicatum</i>	11 650	>44 300	980	-

Os testes ecotoxicológicos realizados demonstram que a suscetibilidade aos dois antibióticos difere marcadamente entre as quatro espécies testadas. Ambas as FQ provocaram um maior nível de toxicidade à cianobactéria e à macrófita *Lemna minor* e comparativamente uma menor toxicidade à alga verde e à macrófita *M. spicatum*.

Uma vez mais os bioensaios indicam, não surpreendentemente, que a cianobactéria *Aphanizomenon flos-aquae* é a espécie mais sensível a ambos os compostos. É, no entanto, de salientar que a macrófita *Lemna minor* apresenta uma sensibilidade idêntica às cianobactérias.

A alga verde *Desmodesmus subspicatus* apresentou-se menos sensível do que *Aphanizomenon flos-aquae*. Esta diferença de sensibilidade entre cianobactérias e algas verdes é

consistente com os resultados do estudo de González-Pleiter *et al.* (2013).

No estudo de Magdaleno *et al.* (2015), os autores estudaram o efeito de 6 antibióticos, na sua forma individual ou como mistura, na presença da alga verde *P. subcapitata*. Para tal, foram realizados testes de toxicidade agudos (EC_{10} , EC_{20} e EC_{50}), os quais se apresentam na tabela 2.13.

Tabela 2.13: Valores de EC_{10} , EC_{20} e EC_{50} dos antibióticos amoxicilina, ampicilina, gentamicina, cefalotina, vancomicina e ciprofloxacina em testes individuais e misturas (mg/L) (Magdaleno *et al.*, 2015).

Antibiótico	EC_{10}	EC_{20}	EC_{50}
AMX	>2000	>2000	>2000
AMP	>2000	>2000	>2000
CEP	76 2	107 5	>600
CIP	$3,3 \pm 0,025$	$5,4 \pm 0,6$	$11,3 \pm 0,7$
GEN	$1,5 \pm 0,5$	$2,4 \pm 0,2$	$19,2 \pm 0,5$
VAN	340 ± 18	430 ± 13	724 ± 20
CEP + CIP	$0,30 \pm 0,10$	$0,45 \pm 0,15$	$0,90 \pm 0,15$
CEP + GEN	$0,20 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,20$	$5,10 \pm 0,15$
CEP + VAN	$1,56 \pm 0,12$	$5,98 \pm 0,25$	-
CIP + GEN	$0,20 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,05$
CIP + VAN	$0,25 \pm 0,05$	$0,60 \pm 0,08$	$5,95 \pm 0,15$
GEN + VAN	$0,25 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,02$	$4,05 \pm 0,06$

De acordo com os dados demonstrados, os antibióticos β -lactâmicos, ampicilina (AMP) e amoxicilina (AMX) não foram tóxicos para a alga em concentrações até 2000 mg/L. Porém, os antibióticos ciprofloxacina (CIP) e gentamicina (GEN) foram os mais tóxicos do estudo, com valores de $EC_{50} = 11,37 \pm 0,7$ mg/L e $19,2 \pm 0,5$ mg/L, respetivamente. A cefalotina (CEP) e a vancomicina (VAN) foram menos tóxicos do que os dois últimos mencionados, mostrando um $EC_{50} > 600$ mg/L e 724 ± 20 mg/L, respetivamente.

No caso da mistura de antibióticos, em todos os casos, foi observado um efeito sinérgico, mostrando que estes riscos aumentam quando os antibióticos estão presentes em misturas binárias.

No estudo de Gaffney *et al.* (2016), mencionado anteriormente, foram avaliados os riscos ambientais de diversos compostos farmacêuticos (tabela 2.14), através do cálculo do risco de quociente (RQ), que dependendo do objetivo do estudo em causa, pode ser calculado através de diferentes variáveis.

Os quocientes de risco (RQ) foram estimados através da seguinte equação:

$$RQ = \frac{MEC}{PNEC}$$

onde MEC é a concentração máxima detetada em amostras de águas superficiais ou subterrâneas e PNEC (*Predicted No-Effect Concentration*) é a concentração que não provoca efeitos observáveis em determinado organismo.

Tabela 2.14: Resultados obtidos na avaliação do risco ambiental dos compostos farmacêuticos (Adaptado de Gaffney *et al.*, 2016)

Composto farmacêutico	PEC ($\mu\text{g/L}$)	MEC ($\mu\text{g/L}$)	PNEC ($\mu\text{g/L}$)	RQ	Classificação do Risco
Eritromicina	0,26	0,031	0,02	1,55	Risco Elevado
Sulfametoxazol	-	0,022	0,027	0,81	Risco Médio
Propranolol	0,57	0,0007	0,005	0,14	Risco Médio
Diclofenac	2,5	0,011	0,1	0,11	Risco Médio
Paracetamol	8,4	0,047	1	0,05	Risco Baixo
Gemfibrozil	0,99	0,018	0,9	0,02	Risco Baixo
Naproxeno	2,3	0,006	0,64	0,01	Risco Baixo
Indometacina	0,13	0,037	3,9	0,01	Risco Baixo
Ibuprofeno	7,2	0,021	1,65	0,01	Risco Baixo
Carbamazepina	3,6	0,012	4,92	0,002	Risco Baixo
Cafeína	-	0,046	87	0,001	Risco Baixo
Sulfapiridina	-	0,0017	21,61	0,0001	Risco Baixo
Sulfadiazina	-	0,026	35	0,001	Risco Baixo
Atenolol	0,64	0,003	30	0,0001	Risco Baixo
Sulfametazina	-	0,0005	128	0,000004	Risco Baixo
Nimesulida	2,7	0,027	ND	—	—

Apenas a eritromicina apresentou um valor de RQ superior a 1, indicando um risco elevado para o ambiente. Três compostos, sulfametoxazol, propranolol e diclofenac, apresentaram risco médio ($0,1 \leq \text{RQ} \leq 1$) para o ambiente, com valores de RQ entre 0,11 e 0,81. Os restantes fármacos apresentaram um baixo risco ambiental, com RQ entre 0,000004 e 0,05. Comparando estes resultados com os obtidos noutros estudos de avaliação do risco relativos a águas superficiais e subterrâneas, verifica-se que um mesmo fármaco pode ter classificações de risco ambiental diferentes (Gaffney *et al.*, 2016).

No estudo de González-Pleiter *et al.* (2013) foram igualmente estimados valores de RQ para a alga verde *P. subcapitata*. O valor mais elevado foi obtido pelo antibiótico tetraciclina que apresentou um risco elevado (1,8). A eritromicina e as misturas de Tetraciclina-Norfloxacin e Tetraciclina-Eritromicina apresentaram um risco médio, com valores de RQ respetivos, 0,73, 0,13 e 0,77.

2.5 Efeitos/Riscos sobre a Saúde Humana

O impacto que os compostos farmacêuticos e os produtos de cuidados pessoais (PPCP) têm no ambiente é um assunto muito discutido atualmente. Diversos investigadores reportaram a presença de fármacos nos mais variados compartimentos ambientais, mas principalmente em recursos hídricos. A sua deteção a níveis vestigiais em rios, águas subterrâneas e em águas de consumo levantou questões sobre se essas concentrações podem ou não afetar a saúde humana (Schwab *et al.*, 2005).

A questão relacionada com os produtos farmacêuticos na água potável deve-se ao possível impacto na saúde humana devido à sua exposição a longo prazo. Szymonik *et al.*

(2017) dão como exemplo o seguinte: se a concentração de um composto farmacêutico na água potável for 5 ng/L e um ser humano beber cerca de 2 litros por dia, significará que uma ingestão diária deste medicamento é cerca de 10 ng. Esta pequena dose diária resulta em cerca de 3 650 ng/ano. Se esse valor for multiplicado pela expectativa de vida média (cerca de 70 anos), a dose total seria 255 500 ng. Essa ingestão inconsciente de produtos farmacêuticos que pertencem a diferentes grupos terapêuticos pode ter efeito adicional sobre um organismo humano.

Apesar de existir a consciência de que o número de produtos farmacêuticos consumidos é elevado e que inevitavelmente estes acabam por atingir o meio ambiente, pouca é a legislação sobre a contaminação ambiental por esta classe de compostos, provavelmente por existir pouco conhecimento significativo (Santos *et al.*, 2010). Mais recentemente, no domínio da política da água, a Diretiva 2013/39/UE (2013) refere pela primeira vez a contaminação das águas e dos solos por resíduos farmacêuticos como um problema ambiental. Esta diretiva indica a primeira lista de vigilância, publicada em 2015 (Decisão de Execução 2015), e contém 10 substâncias ou grupo de substâncias, algumas das quais, compostos farmacêuticos: um anti-inflamatório não-esteróide (diclofenac), as hormonas estradiol (E2), etinilestradiol (EE2) e estrona (E1), e os antibióticos da classe dos macrólidos (eritromicina, claritromicina e azitromicina) (Gaffney *et al.*, 2016).

A fim de se garantir segurança, estudos de avaliação de risco sobre a saúde humana devem ser realizados e com este propósito, em 2001, a Comissão Europeia através da Directiva 2001/83/CE, mais tarde alterada pela Diretiva 2004/27/CE, exigiu uma avaliação de risco ambiental, a partir de testes de ecotoxicidade relativamente aos produtos farmacêuticos de uso Humano (Santos *et al.*, 2010).

A exposição aos compostos, por parte da população, constitui um dos pré-requisitos neste procedimento e esta pode ocorrer a partir de duas principais fontes, o consumo de peixes que sofrem bioacumulação de resíduos farmacêuticos ou o consumo de água. Na verdade, algumas moléculas podem persistir o tempo suficiente para entrar em sistemas de água potável, uma vez que as técnicas convencionais de tratamento de água não asseguram a remoção total de todos os compostos farmacêuticos (Touraud *et al.*, 2011).

A exposição dermatológica às fontes de água onde têm sido determinados diversos compostos farmacêuticos constitui outra via de risco. Esta situação será, provavelmente, mais suscetível de constituir risco para a saúde, no entanto a população está mais focada nos riscos para a saúde humana associados à exposição inadvertida a medicamentos através da água potável. Isto é especialmente importante em áreas onde o efluente de uma estação de tratamento de águas residuais é descarregado nos cursos de água que, por sua vez, são usados como origem de água para a produção de água potável para as comunidades que vivem a jusante (Kümmerer, 2009). Na realidade, e em certos casos, as águas superficiais podem fornecer 30 - 40% do sistema total de abastecimento de água potável (Touraud *et al.*, 2011).

Atualmente, não existe um guia que especifique como a avaliação de risco deve ser conduzida, no entanto, os métodos de avaliação de risco químico para substâncias encontradas em alimentos e água potável envolvem o estabelecimento de valores de ingestão diária aceitável (ADI) com base numa variedade de cálculos através de uma base de dados toxicológicos e epidemiológicos. ADI constitui um valor limite que pode ser ingerido diariamente por um período prolongado, geralmente durante a vida, sem risco significativo para a saúde e é usado para gerar as PNEC (*Predicted No-Effect Concentration*) da exposição ambiental para a saúde humana resultante da ingestão de água ou consumo de peixe. (WHO, 2011).

Estudos realizados indicam que os impactos adversos para a saúde humana resultantes da exposição às concentrações vestigiais de fármacos que poderiam ser encontrados na água potável são muito improváveis, no entanto, pouca informação existe acerca de efeitos a longo prazo.

Com o objetivo de avaliar potenciais riscos que os compostos farmacêuticos expõem na população humana, Leung *et al.* (2013) investigaram as consequências da presença destes compostos na água de abastecimento, já anteriormente referidos, teriam para a saúde da população chinesa.

A avaliação dos riscos para a saúde humana, que advém da sua exposição, baseou-se no cálculo do quociente de risco (RQ).

No presente estudo foram tidos em conta diferentes fases da vida, a fim de aumentar a probabilidade de exatidão da avaliação do risco, uma vez que, segundo os autores, a maioria das avaliações anteriormente realizadas consideram valores padrão de peso corporal e taxa de água potável para adultos (70 kg, 2 L / Dia) e para crianças (10 ou 14 kg; 1 L / dia).

Os valores RQ, para este estudo, foram estimados através do quociente entre a concentração máxima do composto encontrada nas amostras pelo respetivo DWEL (*Drinking Water Equivalente Level*):

$$DWEL = \frac{ADI \times BW \times HQ}{DWI \times AB \times FOE}$$

Onde ADI é a dose diária aceitável ($\mu\text{g}/\text{kg}.\text{dia}$), BW representa o peso corporal (kg), HQ é o quociente de perigo ao qual é atribuído o valor de 1, DWI é o volume diário de água ingerido (L/dia), AB representa a taxa de absorção, que se assume seja 1, e FOE é a frequência de exposição (tabela 2.15). Um valor RQ maior que 1 sugere uma possibilidade de risco elevado relacionado à exposição inadvertida através da água potável, enquanto um valor $0,1 \leq RQ \leq 1$ constitui um risco médio e $RQ < 0,1$ um risco baixo (Gaffney *et al.*, 2016).

Os autores observaram que, entre os estágios de vida avaliados, valores de RQ em lactentes (nascimento <12 meses) e crianças (idade 1 a <11 anos) foram pelo menos 1,2

- 5,8 vezes superiores aos RQ aproximadamente constantes durante a adolescência e a idade adulta (figura 2.9). A ingestão de água potável em função do peso corporal em idades iniciais da vida poderia representar níveis de exposição mais elevados e, portanto, maiores riscos que para os adultos.

Tabela 2.15: Variáveis usadas para o cálculo do valor de DWEL (adaptado de Gaffney *et al.*, 2015)

Idade do grupo	Peso corporal (BW) (kg)	DWI (L/dia)	Antibiótico	ADI ($\mu\text{g/kg.dia}$)
0 - 3 meses	5,6	1,15	Sulfadiazina	20
3 - 6 meses	7,2	1,14	Sulfametazina	1,6
6 - 12 meses	9,4	1,18	Sulfapiridina	50
1 - 2 anos	12	0,85	Sulfametoxazol	130
2 - 3 anos	13,8	0,83	Eritromicina	40
3 - 6 anos	19	1,16		
6 - 11 anos	36	1,55		
11 - 16 anos	56	1,90		
16 - 18 anos	57	1,77		
adultos (≥ 18 anos)	60	2,04		

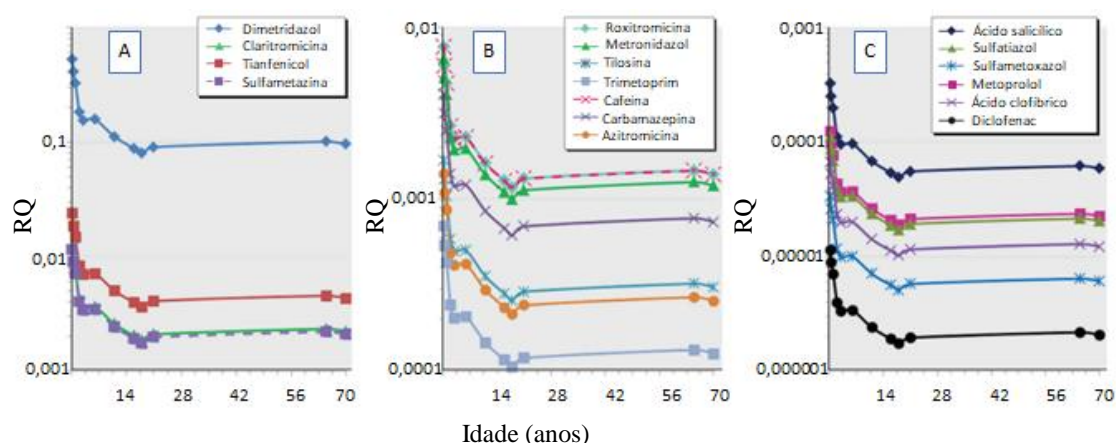


Figura 2.9: Perfil dos valores RQ nas diferentes fases de vida de produtos farmacêuticos detetados na água da torneira na China (Leung *et al.*, 2013)

Ainda que todos os compostos apresentassem um $RQ < 1$, o dimetridazol (grupo A), com funções antiprotozoárias, carcinógeno potencial e resíduo proibido em produtos alimentares na China, demonstrou ser o composto mais tóxico na água da torneira. O composto apresentou um valor de RQ médio de 0,1, o qual, segundo Gaffney *et al.* (2016), é considerado como risco médio. Em todos os gráficos e compostos observa-se que os quocientes de risco estabilizam, a partir da idade adulta, uma vez que está diretamente relacionado com o peso corporal do indivíduo que tende a estagnar ou até diminuir ligeiramente.

Entre os antibióticos analisados, o tianfenicol, foi aquele que demonstrou maior valor

de RQ, em todos os estágios, e, portanto, constituiu maior risco, apesar de que apenas o primeiro ano de vida apresentasse um $RQ > 0,01$. O sulfatiazol e sulfametoxazol constituíram os antibióticos menos tóxicos. Em geral, nenhum dos compostos apresentou riscos consideráveis para a saúde humana através da ingestão de água potável durante toda a vida.

Leung *et al.* (2013) afirmam ainda que tendo em consideração que a suscetibilidade aos compostos farmacêuticos em idades precoces de desenvolvimento pode resultar em efeitos adversos, torna-se necessário avaliar as exposições aos compostos farmacêuticos através da água da torneira no útero da mãe e através da amamentação.

No estudo de Gaffney *et al.* (2015) foi também avaliado o risco para a saúde humana associado aos compostos farmacêuticos presentes na água para consumo humano, que semelhantemente ao estudo anterior utilizou o valor de DWEL. Porém, para simular o pior cenário, os autores calcularam o RQ da água para consumo humano utilizando a concentração máxima encontrada nas águas brutas, assumindo um potencial problema operacional nas ETA (tabela 2.16).

Tabela 2.16: DWEL e RQ estimados para os diferentes intervalos de idade (Gaffney *et al.*, 2016)

Compostos farmacêuticos	Conc. max ($\mu\text{g/L}$)	Intervalo de idades					
		0 - 3 meses		6 - 12 meses		Adultos	
		DWEL ($\mu\text{g/L}$)	RQ	DWEL ($\mu\text{g/L}$)	RQ	DWEL ($\mu\text{g/L}$)	RQ
Cafeína	0,046	625	0,00007	1240	0,00004	4596	0,00001
Carbamazepina	0,014	1,52	0,01	2,48	0,01	9,19	0,001
Atenolol	0,002	11	0,0001	22	0,00007	83	0,00002
Propranolol	0,0067	233	0,000003	463	0,000001	1716	0,0000004
Sulfadiazina	0,001	83	0,00002	165	0,000009	613	0,000002
Sulfametazina	0,0005	6,7	0,00007	13	0,00004	49	0,00001
Sulfapiridina	0,0019	208	0,00001	413	0,000005	1532	0,000001
Sulfametoxazol	0,0013	542	0,000002	1075	0,000001	3983	0,0000003
Eritromicina	0,005	167	0,00003	331	0,00002	1225	0,000004
Ibuprofeno	0,021	458	0,00005	909	0,00002	3370	0,00001
Naproxeno	0,006	192	0,00003	380	0,00002	1409	0,000004
Nimesulida	0,027	1542	0,00002	3059	0,000009	11336	0,000002
Gemfibrozil	0,018	5,4	0,003	11	0,002	40	0,0005
Indometacina	0,037	388	0,0001	769	0,00005	2849	0,00001
Diclofenac	0,011	6,7	0,002	13	0,0008	49	0,0002
Paracetamol	0,047	1417	0,00003	2811	0,00002	10417	0,000005

Para todos os antibióticos, o intervalo de idade 0-3 meses demonstrou maior quociente de risco, no entanto todos estes compostos apresentaram um $RQ < 0.0001$, o que implica que os antibióticos detetados nas amostras de água analisadas, não representam qualquer risco para a saúde do consumidor, uma vez que existe uma margem substancial entre os valores de DWEL e as concentrações detetadas, estando de acordo com outros estudos sobre avaliação do risco sobre a saúde humana (Gaffney *et al.*, 2015).

No estudo de Gaffney *et al.* (2015) verifica-se um risco relativamente mais elevado para o antibiótico sulfametazina e um risco inferior relativamente ao sulfametoxazol, estando em concordância com o estudo de Leung *et al.* (2013).

Houtman *et al.* (2014) investigaram, igualmente, a exposição permanente dos consumidores a compostos farmacêuticos individuais, bem como a sua mistura total, via água potável. O estudo foi realizado na Holanda, país em que 40% da água potável produzida é proveniente das águas superficiais dos rios Reno e Meuse (figura 2.10).

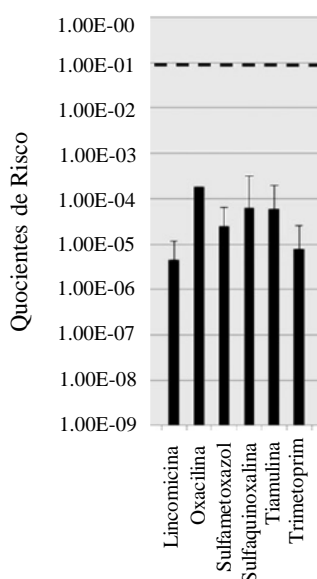


Figura 2.10: Quocientes de risco calculados para o consumo vitalício de água potável preparada a partir da ETA do rio Reno. (adaptado de Houtman *et al.*, 2014)

Todos os valores de RQ calculados são inferiores a 0.001 indicando que potenciais efeitos na saúde humana devido à exposição ao longo da vida são considerados negligenciados.

Mais recentemente, foi realizado um estudo que pretendeu, para além de avaliar os riscos ecológicos no ambiente, realizar uma avaliação dos riscos para a saúde humana decorrentes da exposição a antibióticos de modo individual ou como misturas, através da água potável e do consumo de peixe.

O estudo teve lugar na China, onde foi avaliada a água da bacia do rio Yinma, que é a principal origem de água doméstica e de irrigação das terras agrícolas na região. Para avaliar os riscos, para a saúde humana, Ju *et al.* (2017) usaram valores de RQ calculados de forma semelhante ao estudo de Leung *et al.* (2013). Nas mesmas condições, os níveis de perigo de diferentes grupos de pessoas diferem, de modo que os riscos para a saúde de homens e mulheres foram avaliados.

Os valores médios de RQ para a água potável foram, uma ou duas ordens de grandeza, superior aos valores resultantes do consumo de peixe, indicando que a via de água potável

contribuiu, comparativamente mais para os riscos para a saúde humana (tabela 2.17).

Tabela 2.17: Valores médios de RQ para o total de cinco antibióticos através do consumo de água potável e do consumo de peixes para residentes do sexo masculino e feminino na bacia do rio Yinma (Ju *et al.*, 2017)

Homem		Mulher	
Água potável (RQ)	Peixe (RQ)	Água potável (RQ)	Peixe (RQ)
3,58 E-03	1,67 E-04	3,37 E-03	1,86 E-04

Foram posteriormente determinados os valores de RQ (água potável + consumo peixe) dos antibióticos individualmente, em 17 locais de amostragem, o que sugeriu que a presença de norfloxacin (NOR), ciprofloxacina + enrofloxacin (CIP + ENR), sulfametoxazol (SMX) e metronidazol (MTZ) na água, representava pouco ou nenhum perigo para a saúde humana (tabela 2.18).

Tabela 2.18: Valores de RQ de cinco antibióticos para a saúde humana de homens e mulheres na Bacia do rio Yinma (Ju *et al.*, 2017)

Amostra	NOR		CIP + ENR		SMZ		MTZ	
	H	M	H	M	H	M	H	M
1	0	0	5,71 E-06	5,26 E-06	1,05 E-05	9,72 E-06	1,17 E-03	1,09 E-03
2	0	0	5,24 E-06	5,51 E-06	9,61 E-06	1,01 E-05	1,07 E-03	1,13 E-03
3	0	0	5,75 E-06	5,31 E-06	1,06 E-05	9,79 E-06	1,20 E-03	1,10 E-03
4	1,08 E-08	1,20 E-08	5,81 E-06	5,37 E-06	1,08 E-05	1,00 E-05	1,17 E-03	1,08 E-03
5	0	0	5,67 E-06	5,21 E-06	1,05 E-05	9,66 E-06	1,16 E-03	1,07 E-03
6	0	0	5,70 E-06	5,25 E-06	1,05 E-05	9,65 E-06	1,20 E-03	1,11 E-03
7	0	0	5,89 E-06	5,46 E-06	1,08 E-05	9,98 E-06	1,21 E-03	1,12 E-03
8	0	0	5,72 E-06	5,27 E-06	1,06 E-05	9,80 E-06	1,19 E-03	1,10 E-03
9	0	0	5,77 E-06	5,33 E-06	1,07 E-05	9,85 E-06	1,19 E-03	1,10 E-03
10	2,32 E-09	2,56 E-09	5,91 E-06	5,48 E-06	1,09 E-05	1,01 E-05	1,21 E-03	1,12 E-03
11	0	0	5,33 E-06	5,61 E-06	9,91 E-06	1,04 E-05	1,11 E-03	1,17 E-03
12	0	0	6,02 E-06	5,60 E-06	1,10 E-05	1,02 E-05	1,21 E-03	1,12 E-03
13	2,99 E-09	3,31 E-09	6,05 E-06	5,64 E-06	1,10 E-05	1,02 E-05	1,20 E-03	1,11 E-03
14	1,72 E-08	1,90 E-08	5,89 E-06	5,46 E-06	1,08 E-05	1,00 E-05	1,21 E-03	1,12 E-03
15	1,02 E-08	1,13 E-08	5,89 E-06	5,46 E-06	1,08 E-05	1,00 E-05	1,21 E-03	1,12 E-03
16	5,14 E-08	5,82 E-08	5,40 E-06	5,69 E-06	1,02 E-05	1,08 E-05	1,11 E-03	1,17 E-03
17	0	0	5,90 E-06	5,47 E-06	1,08 E-05	9,99 E-06	1,21 E-03	1,12 E-03

H - homem; M - mulher

Todos os valores de RQ, na tabela apresentados, foram inferiores a 1. Para os homens, variaram entre 0 e 0,00121 e para as mulheres variaram entre 0 e 0,00117, indicando, deste modo, negligenciáveis riscos para a saúde humana, sendo que os riscos foram superiores para os homens comparativamente às mulheres. Neste estudo, o antibiótico metronidazol foi o composto mais tóxico tanto para homens como para mulheres, que está em concordância com o facto de ter sido detetado no rio em maior concentração.

2.6 Resistência bacteriana aos antibióticos

O uso excessivo de antibióticos em terapia humana e na alimentação animal levou a um problema de contaminação dos recursos hídricos, a nível global. Uma das grandes preocupações associadas a esta contaminação, para além do impacto direto associado ao consumo humano e a ameaça aos organismos aquáticos, é o desenvolvimento e propagação da resistência bacteriana a estes compostos e subsequente entrada no sistema de abastecimento de água potável (Kümmerer, 2009b).

À medida que a reutilização das águas residuais tratadas aumenta, as preocupações de que antibióticos e bactérias resistentes a antibióticos (ARB) sejam introduzidos nos sistemas de água potável também aumentaram devido ao risco potencial de exposição humana. A Figura 2.11 ilustra as possíveis rotas que os antibióticos e os genes resistentes a antibióticos podem tomar, por exemplo, durante a passagem pela ETAR e escorrências agrícolas até aos consumidores finais de água potável. Em muitos casos, os pontos de descarga das ETAR municipais localizados a montante de um sistema de captação de água da ETA são a principal fonte de antibióticos e bactérias resistentes aos antibióticos no abastecimento de água. A quantidade de bactérias resistentes aos antibióticos que acabam no sistema de distribuição de água pode depender do processo de desinfecção utilizado no sistema de tratamento de água (Kim & Aga, 2007).

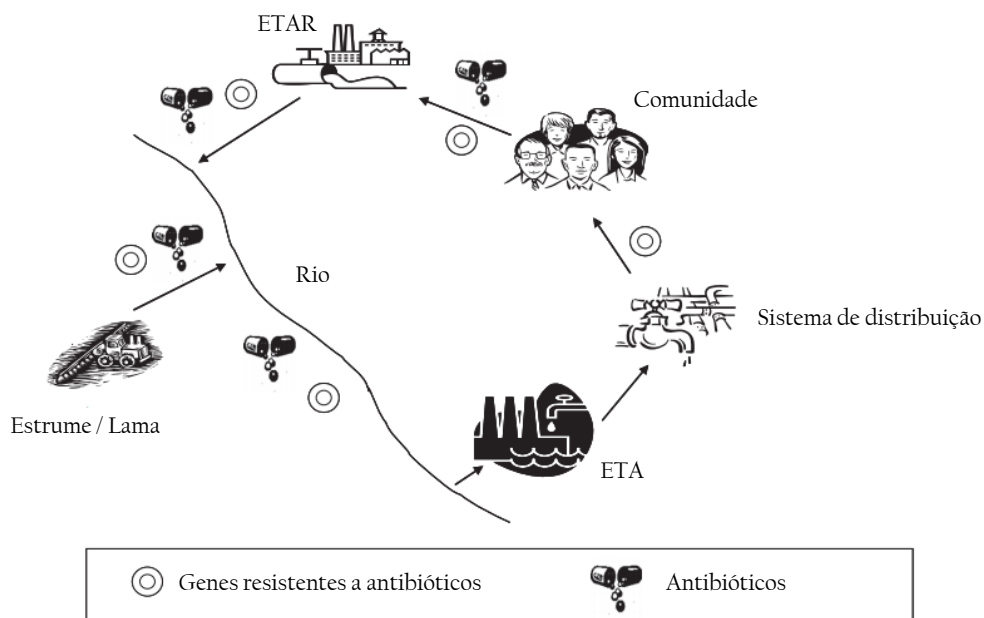


Figura 2.11: Sistema urbano do ciclo da água (Kim & Aga, 2007)

O sucesso do uso dos antibióticos como agentes terapêuticos deve-se à sua capacidade de interferência com as estruturas e/ou funções da célula bacteriana (procariótica), que estão ausentes nas células hospedeiras (eucarióticas). Os antibióticos têm a capacidade de interferir com a síntese da parede celular, inibir a síntese de proteína ou ácido nucleico,

interromper a estrutura da membrana bacteriana ou inibir uma via metabólica vital para a célula. Por sua vez, os mecanismos de resistência ao antibiótico estão relacionados com a capacidade que a bactéria tem ou poderá desenvolver de modo a evitar tais interferências.

Nos últimos anos, o aumento da resistência a antibióticos tornou-se um importante problema de Saúde Pública, sendo considerado, pela WHO (2014), o problema de saúde crítico deste século. Recentemente, a sua prevalência tem levado a alguma inquietação por parte da comunidade médica onde doenças e agentes de doenças, que antes se pensavam controladas por antibióticos, estão a começar a resistir a tais terapias, resultando cada vez mais em doença prolongada e num maior risco de vida. De acordo com dados recentes do Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças e da Agência Europeia de Medicamentos, todos os anos, aproximadamente 25 000 cidadãos europeus morrem de infeções causadas por bactérias que desenvolveram resistência aos antibióticos (Proia *et al.*, 2016) e é estimado que 70% das bactérias responsáveis por estas infeções são resistentes a pelo menos um dos antibióticos comumente usados para o seu tratamento (Muto, 2005).

As bactérias tornam-se resistentes aos antibióticos através de mecanismos variáveis em que o modo de ação é dependente do antibiótico e da resistência genética determinada pelo microrganismo alvo. Deste modo, as bactérias podem ser resistentes naturalmente ou adquirir essa resistência. A resistência natural (intrínseca) é a capacidade para resistir a um particular agente antimicrobiano através das suas características estruturais e funcionais inerentes. É importante referir que a resistência aos antibióticos é um fenómeno naturalmente presente no ambiente, uma vez que a maior parte destes compostos usados para tratar infeções são produzidos por microrganismos no seu ecossistema natural (Kümmerer, 2009b). Por outro lado, a resistência adquirida deve-se a mutações que ocorrem em genes cromossómicos, ou pela aquisição de elementos genéticos móveis, tais como plasmídeos ou transposões, portadores de genes resistentes a antibióticos (Lupo *et al.*, 2012).

De um modo geral, a resistência ao antibiótico caracteriza-se por ser um traço genético adaptativo possuído ou adquirido por subpopulações de bactérias, permitindo-lhes sobreviver e crescer na presença do agente antibiótico em concentração terapêutica que normalmente inibe ou destrói esses microrganismos (Carvalho & Santos, 2016).

Sabe-se que as bactérias humanas e animais entram continuamente no meio ambiente, normalmente através de águas residuais (por exemplo, excreção humana e defecação de gado diretamente em ribeiros). Muitos desses organismos podem possuir os genes de resistência antibiótica os quais têm a capacidade de se espalhar entre as comunidades bacterianas autóctones do solo e água. Silva *et al.* (2006) sugerem ainda que, embora o tratamento de águas residuais reduza o número total de bactérias, pode, no entanto, aumentar a proporção de bactérias resistentes aos antibióticos em efluentes, bem como dos genes que possuem resistência antibiótica, constatando-se o contributo da ETAR para um

aumento de bactérias nos seus efluentes. Simultaneamente, antibióticos de diversas origens entram nos recursos hídricos, ao qual a sua presença (particularmente, com uma dose inferior à concentração mínima inibitória [MIC]) juntamente com bactérias detentoras de genes resistentes a antibióticos pode desenvolver, efetivamente, resistência bacteriana (Baquero *et al.*, 2008; Harris *et al.*, 2012).

Apesar da crescente preocupação com a resistência aos antibióticos, este fenómeno não tem sido totalmente explorado em cenários ambientais, muito possivelmente devido às concentrações de antibióticos detetados em ambientes não clínicos serem geralmente muito baixas (Marti *et al.*, 2014), sendo questionado por Kümmerer (2004) se a entrada de antibióticos no ambiente será uma fonte importante para a aquisição de resistência por parte das bactérias. O autor interroga ainda se a concentração de antibiótico e densidade bacteriana serão suficientemente altas, se a exposição dura tempo suficiente para promover resistência, ou se será a transferência de bactérias resistentes após uso indevido de antibióticos muito mais importante do que a entrada dos próprios antibióticos, em afluentes de água.

O impacto dos antibióticos presentes no meio aquático na frequência de transferência de resistência é questionável e sobre ele pouco se sabe. Uma vez no ambiente, os antibióticos podem ser eliminados por processos bióticos (biodegradação por bactérias e fungos) ou por processos não-bióticos (hidrólise, fotólise, oxidação e redução), atingindo concentrações muito baixas, ou seja, níveis sub-inibitórios (Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Kümmerer, 2009). Em concentrações sub-inibitórias, os antibióticos podem promover várias alterações nas funções de limpeza das células, algumas delas podem não estar associadas à resistência aos antibióticos, mas contribuem para a perturbação da comunidade microbiana, levando, eventualmente, a um aumento geral da resistência (Fajardo & Martinez, 2008).

A informação disponível até à data sugere que a entrada de bactérias resistentes no meio ambiente a partir de diferentes fontes parece ser a principal fonte de resistência no meio ambiente. (Kümmerer, 2009b). No entanto, alguns estudos têm revelado que concentrações sub inibitórias de antibióticos similares às encontradas em alguns recursos hídricos podem, efetivamente, promover resistência bacteriana aos antibióticos (Chow *et al.*, 2015; Gullberg *et al.* 2011).

No estudo realizado por Gullberg *et al.* (2011) foram analisadas duas espécies de bactérias e três antibióticos com o objetivo de determinar se a exposição a concentrações de antibióticos muito baixas podem resultar em bactérias resistentes. Na experiência obtiveram-se concentrações mínimas inibitórias (MIC) para a ciprofloxacina e para a tetraciclina de 100 ng/L e 15 000 ng/L, respetivamente, as quais se assemelham a concentrações que podem ser encontradas em alguns ambientes hídricos. O valor de MIC traduz a concentração mais baixa de um antibiótico, capaz de inibir o crescimento de uma bactéria. Tendo por base o mesmo objetivo, Andersson & Hughes (2012) atingiram

valores semelhantes ao estudo anterior. Os valores de MIC determinados, em condições laboratoriais, corresponderam a 1 g/ml (streptomicina), 15 000 ng/L (tetraciclina), e de 100 ng/L até 2 500 ng/L (ciprofloxacina).

Também Chow *et al.* (2015) se propuseram a testar se concentrações sub-inibitórias de antibióticos afetam espécies *Pseudomonas* clinicamente e ambientalmente representativas. Segundo os autores, as bactérias *P. aeruginosa* e *P. protegens* expostas aos antibióticos canamicina, tetraciclina e ciprofloxacina a 1/10 do valor de MIC demonstraram alterações significativas ao nível do genoma (alterações na sequência do ADN) e do fenótipo (morfologia).

Concentrações correspondentes a 1/10 da MIC são, muitas vezes, semelhantes a concentrações de antibióticos detetados em águas superficiais, indicando que os resultados deste estudo provavelmente representarão as taxas de mutação e recombinação que ocorrem em ambientes poluídos por antibióticos (Chow *et al.*, 2015).

As bactérias resistentes aos antibióticos começaram a ser detetadas na água potável na década de 1980 e mais tarde na década de 1990 (Kümmerer, 2004). Estudos mais recentes relataram igualmente bactérias e genes com resistência a antibióticos na água para consumo, enfatizando o potencial risco para os humanos e animais (Farkas *et al.*, 2013; Xi *et al.*, 2009). Esta questão assume especial relevância nos países em desenvolvimento onde o acesso à água potável é limitado e a água potável pode ser retirada diretamente de origens de água contaminadas, e usada sem qualquer tratamento.

Para além disso, atualmente, supõe-se que os processos de tratamento de água de consumo (ETA) possam estar diretamente relacionados com alterações na comunidade de bactérias resistentes aos antibióticos (Bai *et al.*, 2015). No estudo realizado por Bai *et al.* (2015) foi estudada, precisamente, a influência que os tratamentos na ETA podem ter nas taxas de resistência bacteriana aos antibióticos com a utilização dos seguintes antibióticos: ampicilina, canamicina, rifampicina, cloranfenicol e streptomicina.

Foram estudadas duas estações de tratamento de águas da cidade de Shangai na China providas de: pré-ozonização, coagulação/floculação, sedimentação, filtração de areia, pós-ozonização, filtro de carvão ativado biológico (CAB) e tratamentos de desinfecção por cloraminas. Os resultados demonstraram que 16 tipos de bactérias resistentes a antibióticos (ARB) foram detetados na água tratada, dos quais, 75% eram resistentes a múltiplos antibióticos. Além disso, os autores chegaram a outras conclusões (figura 2.12).

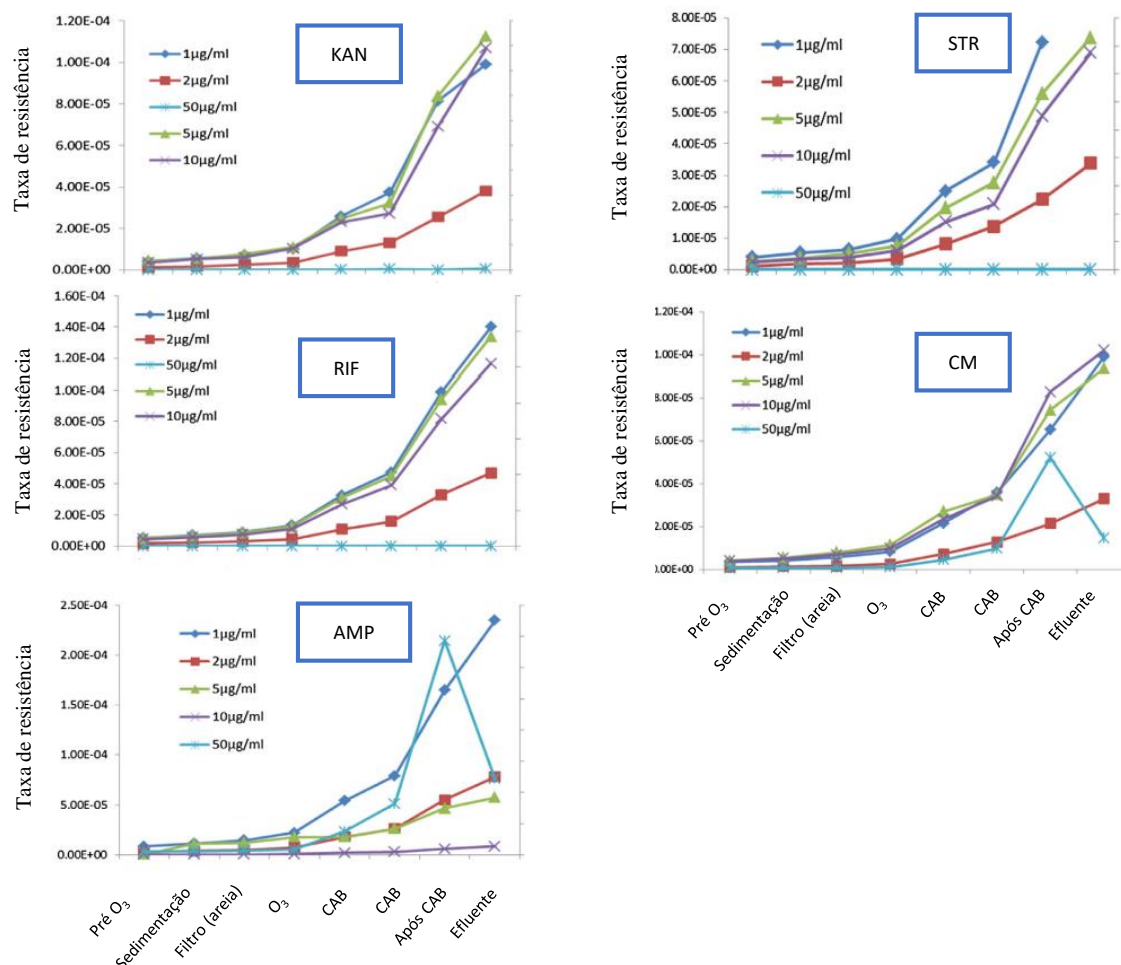


Figura 2.12: Influência dos processos de tratamento de água nas taxas de resistência a antibióticos de bactérias em várias concentrações de antibióticos para diferentes antibióticos. Kan - Canamicina; STR - Estreptomicina; RIF - Rifampicina; CM - Cloranfenicol; AMP - Ampilicina. Efluente - após desinfecção (Bai *et al.*, 2015)

Quando os antibióticos estudados apresentaram concentrações dentro da faixa dos 1 – 10 $\mu\text{g/mL}$ as taxas de resistência bacteriana aos antibióticos aumentaram à medida que os processos de tratamento da água progrediram. Observou-se um aumento particularmente significativo após o processo de filtração por CAB, durante o qual uma grande quantidade de microrganismos se agregaram (Bai *et al.*, 2015). Este ambiente foi propício à compartilha de elementos genéticos, nomeadamente genes resistentes, responsáveis pela resistência bacteriana aos antibióticos.

Além disso, e como é observável na figura 2.12 (efluente), o processo de desinfecção por cloraminas teve também um grande efeito sobre a resistência aos antibióticos. Em contraste não foram observados aumentos significativos após a coagulação, sedimentação ou a filtração com areia.

À medida que a concentração de antibióticos aumentava e, particularmente, quando

a concentração excedia os 10 $\mu\text{g/mL}$, quase todas as bactérias foram inibidas ou mortas e não se conseguiram reproduzir (Bai *et al.*, 2015).

2.7 Tecnologias de tratamento de remoção de antibióticos da água para consumo

A frequente detecção de antibióticos em águas superficiais e águas subterrâneas é consequência de atividades antropogênicas, nomeadamente de atividades industriais, domésticas e veterinárias e de uma ineficiente remoção em ETAR, conforme referido anteriormente. Diversos estudos têm relatado a presença destes compostos na água de abastecimento o que sugere que alguns processos usados nas ETA não são eficazes. Com o objetivo máximo de proteger a saúde humana, os processos de tratamento deverão garantir a maximização da remoção destes compostos (Vieno *et al.*, 2007).

As estações de tratamento de água (ETA) foram projetadas para remover diferentes contaminantes (agentes patogênicos e substâncias orgânicas e inorgânicas) presentes na água bruta, com o objetivo de providenciar água potável que esteja de acordo com os limites legais. O tipo de tratamentos aplicado depende principalmente das características (físicas, químicas e bacteriológicas) da água bruta, sendo que os processos mais utilizados incluem coagulação, floculação, sedimentação, filtração e desinfecção (Jelic *et al.*, 2012). A figura 2.13 apresenta uma típica linha de tratamento convencional de uma estação de tratamento de água para abastecimento.

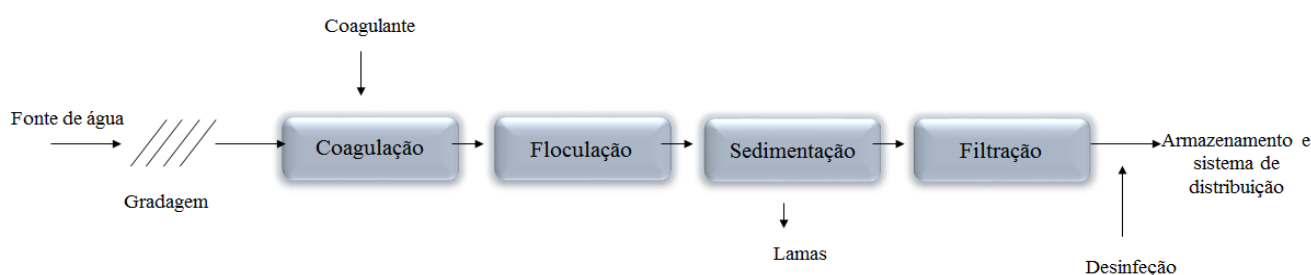


Figura 2.13: Linha de tratamento convencional de uma estação de tratamento de águas (adaptado de Spellman, 2003)

A coagulação e a floculação são uma parte essencial do tratamento de água potável. Apesar de serem ineficazes na remoção de contaminantes orgânicos a nível vestigial, estas operações auxiliam na remoção de partículas coloidais (turvação) e matéria orgânica natural (NOM) e também alguns inorgânicos (por exemplo, cobre, mercúrio, arsênico e flúor) (Ternes *et al.*, 2004).

2.7.1 Processos de oxidação/ desinfecção

A desinfecção é um método de tratamento que tem como objetivo a eliminação de microrganismos potencialmente nocivos para a saúde dos consumidores, constituindo o mais importante processo a que uma água, com destino ao consumo humano, deve ser sujeita.

Independentemente da origem de água, todas as águas de abastecimento devem ser sujeitas ao processo de desinfecção, mesmo no caso em que exista uma garantia de qualidade microbiológica (Alves, 2010). Em Portugal, o Decreto-Lei 236/98 de 1 de agosto, propõe diferentes classes para as águas destinadas à produção de água para consumo humano de acordo com a sua qualidade. As águas que apresentam melhor qualidade pertencem à Classe A1, A2 para as intermédias e A3 para as que apresentam pior qualidade. No Decreto-Lei são definidos os tratamentos a aplicar, em função da categoria em que a água se encontra:

- **Classe A1** – tratamento físico e desinfecção;
- **Classe A2** – tratamento físico e químico e desinfecção;
- **Classe A3** – tratamento físico, químico de afinação e desinfecção.

Entre os oxidantes/desinfetantes mais frequentemente utilizados em sistemas de tratamento de águas de abastecimento encontram-se o cloro, o dióxido de cloro e o ozono.

Os processos de oxidação podem ocorrer em três pontos distintos ao longo da linha de tratamento. Inicialmente pode ocorrer a pré-oxidação da água, que tem como objetivo o controlo de odor, cor e sabor, a redução do teor de contaminantes específicos, o controlo do crescimento biológico nas tubagens bem como no controlo do desenvolvimento de algas, essencialmente nos decantadores. Eventualmente pode ser necessário implementar uma oxidação intermédia, sendo normalmente utilizado o ozono como reagente (pós-ozonização). Nesta etapa o reagente é utilizado com o objetivo principal de tornar os filtros de carvão biologicamente ativos.

Na fase final da linha de tratamento deve ser garantida a inativação/destruição dos microrganismos patogénicos e assegurada a proteção da água ao longo do sistema de distribuição de água. Na figura 2.14 é apresentada uma linha de tratamento de água para abastecimento e a localização dos processos de oxidação/desinfecção.

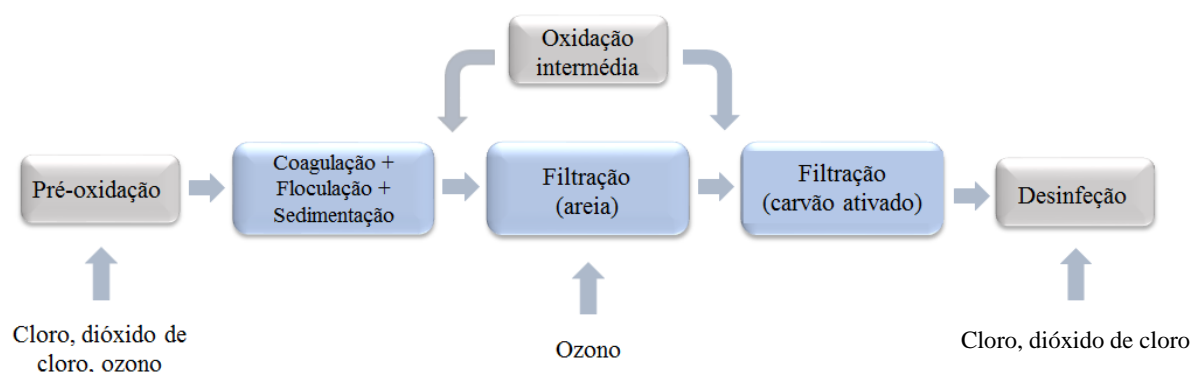


Figura 2.14: Localização dos processos de oxidação/desinfecção numa linha de tratamento de água para abastecimento

2.7.1.1 Cloragem

O cloro constitui o desinfetante mais amplamente utilizado para a inativação de agentes patogénicos em tratamentos de água de abastecimento e, historicamente, fez o maior contributo para a proteção da saúde pública dos consumidores (EPA, 2011). Este oxidante/desinfetante é utilizado na desinfeção numa de três formas: gasosa como Cl_2 , na forma líquida (hipoclorito de sódio – $NaOCl$) ou na forma sólida (hipoclorito de cálcio $[Ca(OCl)_2]$). A sua seleção em detrimento das outras formas depende da quantidade de água a ser tratada, da configuração do sistema de água, da disponibilidade local dos produtos químicos e da capacidade do operador (Spellman, 2003).

Em contacto com a água, estes reagentes são rapidamente hidrolisados, originando os compostos ácido hipocloroso ($HOCl$) e o ião hipoclorito (OCl^-) os quais são os agentes ativos na desinfeção (Alves, 2010). O ácido hipocloroso é mais reativo do que o ião hipoclorito e também um desinfetante e oxidante mais forte (EPA, 2011).

A cloragem tem como vantagens ser um processo relativamente simples e económico que não requer uma experiência técnica extensa sendo capaz de se adaptar a sistemas de tratamento de tamanho variável alterando os sistemas de dosagem. O cloro é um bactericida muito eficaz, com possibilidade de ser administrado em diferentes pontos ao longo da linha de tratamento, sendo, no entanto, mais usualmente aplicado como pré-oxidante e/ou no final da linha de tratamento, como desinfetante (Spellman, 2003).

Por outro lado, é necessária precaução ao adicionar cloro livre em águas com a presença de compostos orgânicos, uma vez que essa reação potencia a formação de compostos organo-halogenados, nos quais se incluem os tri-halometanos, considerados compostos cancerígenos. (Letterman, 1999). Apesar de menos eficientes, as monocloraminas são, muitas vezes, utilizadas como desinfetante secundário, sobretudo em águas que originariam elevadas concentrações de subprodutos de desinfeção (SPD), caso se recorresse ao

cloro livre como desinfetante (Alves, 2010).

Uma das principais vantagens de usar compostos de cloro é o resíduo efetivo que ele produz. Um residual indica que a desinfecção está completa e o sistema possui uma qualidade bacteriológica aceitável (Spellman, 2003).

2.7.1.2 Ozonização

Em tratamento de água potável, o ozono atua como oxidante, germicida, bactericida e viricida. Possui um poder desinfetante 10 a 100 vezes superior ao do cloro, propriedade que o torna muito eficiente na eliminação de cor, odor e sabor, matéria orgânica e micropoluentes (Alves, 2010). Constitui um oxidante muito seletivo que reage preferencialmente a ligações insaturadas (ligações C-C dupla ou tripla) e anéis aromáticos substituídos por grupos doadores de elétrons (por exemplo, OH, NH_2 e OCH_3) (Vieno *et al.*, 2007).

Em reação ao contacto com a água, resultam os radicais livres HO e HO_2 , com elevado poder oxidante, que são as espécies ativas no processo de desinfecção.

Na maioria das instalações, o ozono é usado principalmente para controlo de sabor e odor e remoção de cor, em pré-oxidação. É também utilizado em oxidação intermédia, sendo usualmente recomendado o uso de filtros de areia ou filtros com carvão ativado após a sua administração. Deste modo torna-se possível a remoção da matéria orgânica ou micropoluentes oxidados, por adsorção e biodegradação.

O ozono é capaz de destruir macromoléculas orgânicas como ácidos fúlvicos e húmicos e de degradar compostos potencialmente cancerígenos como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. Por outro lado, a sua aplicação pode conduzir à formação de sub-produtos não desejados, incluindo aldeídos, cetonas, ácido glicólico e bromatos, especialmente preocupante devido à sua genotoxicidade e o único não degradado no processo de filtração (Gunten, 2003). O uso de biofiltros após o ozono torna-se especialmente importante na remoção dos sub-produtos da ozonização (Alves, 2010; Schutte *et al.*, 2006).

A utilização de ozono tem como grande vantagem o facto das suas propriedades desinfetantes não se alterarem num intervalo de pH compreendido entre 6 e 8,5, e apresentar tempos de contacto com a água relativamente curtos.

Em contrapartida o custo de implementação do sistema de ozonização é elevado. Sendo o ozono um reagente muito instável e tóxico, torna necessária a sua produção no local e no momento em que é aplicado (Alves, 2010).

Apesar de muito eficiente, o ozono não deve ser usado na desinfecção final da linha de tratamento, uma vez que desta forma não é garantido residual ativo persistente ao longo do sistema de distribuição de água potável, correndo-se o risco de crescimento microbiano nas condutas de distribuição (Alves, 2010).

2.7.1.3 Radiação ultravioleta

A desinfecção por radiação ultravioleta (UV) é eficaz na inativação de protozoários, bactérias e vírus e por se tratar de um agente físico tem a grande vantagem de não serem formados subprodutos no processo, não alterar o sabor ou odor da água e não remover minerais benéficos da água. (Schutte *et al.*, 2006; Johnson, 2010). A sua eficiência depende, entre outros fatores, do nível de turvação da água, pelo que é importante garantir-se uma baixa turvação, de preferência inferior a 5 NTU (Alves, 2010).

O efeito germicida dos raios ultravioleta tem como comprimentos de onda ótimos, a faixa entre os 245 e 285 nm. É neste intervalo que o ADN dos microrganismos absorve radiação UV, induzindo alterações na informação genética que impedem a sua multiplicação (Alves, 2010).

Este processo requer tempos de residência curtos e pequenas doses de radiação, pelo que a maioria dos microrganismos é eliminada com doses de 5-25 mJ/cm² e 90-140 mJ/cm². A radiação UV apresenta-se bastante eficaz contra os protozoários resistentes ao cloro, Giardia e Cryptosporidium. (Schutte *et al.*, 2006; Johnson, 2010).

A radiação ultravioleta apresenta um poder desinfetante residual nulo e consequentemente não oferece proteção contra a multiplicação ou após o crescimento de microrganismos (Schutte *et al.*, 2006).

2.7.2 Processos avançados de oxidação

Nos últimos anos tem se observado um crescente interesse pelos processos avançados de oxidação (PAO) relacionado com a sua capacidade na remoção de poluentes, em comparação com os processos convencionais de tratamento de água (Rodriguez-Narváez *et al.*, 2017).

Os PAO constituem técnicas de tratamento de águas muito eficazes na oxidação de inúmeros compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo os compostos farmacêuticos. Estes processos são todos baseados na geração de radicais livres (HO, O₂, HO₂), nomeadamente o radical hidroxilo (HO), que é um oxidante altamente reativo (Rivera-Utrilla *et al.*, 2013).

Os radicais hidroxilo são formados a partir de oxidantes como H₂O₂ ou O₃, sendo que a eficiência pode ser aumentada pela combinação com a radiação ultravioleta (UV) (Melo *et al.*, 2009). Em condições de operação ótimas, por exemplo, tempo de contato suficiente, são capazes de oxidar o contaminante alvo em dióxido de carbono e água, os produtos finais mais estáveis de oxidação química, através de um processo denominado mineralização (Chen *et al.* 2000).

De acordo com Dewil *et al.* (2017), uma das suas principais vantagens em comparação com as tecnologias convencionais é que os PAO degradam efetivamente componentes recalcitrantes sem gerar um fluxo de resíduos secundário, como é o caso, por exemplo, dos processos de filtração por membranas. Além de que, na maioria dos casos, a formação

de espécies perigosas no efluente é limitada. Apresenta benefícios comparativamente à oxidação por cloro de produtos orgânicos, durante o qual é formada uma quantidade considerável de espécies organo-cloradas.

Os processos avançados de oxidação frequentemente utilizados em tratamentos de água são: O_3/H_2O_2 , O_3/UV , UV/H_2O_2 e $O_3/H_2O_2/UV$.

2.7.3 Carvão ativado

O uso de carvão ativado apresenta diversas aplicações no tratamento de água potável. É normalmente usado para remover compostos que originam odores e sabores na água, compostos sintéticos orgânicos, matéria orgânica dissolvida e subprodutos formados na desinfecção (Karanfil, 2006).

O carvão ativado é comercializado na forma granular (CAG), ou em pó (CAP) e a utilização de cada um deles depende do grau de contaminação da água e da frequência de manifestação de problemas de odores, sabores e contaminantes vários (Alves, 2010).

O carvão em pó é geralmente utilizado para uso descontínuo, tendo como vantagem flexibilidade operatória, já que é possível selecionar a qualidade e o tipo de carvão em função do contaminante a remover. Contudo, quando o problema é recorrente e são exigidas doses elevadas de CAP, o uso de filtros de carvão granular torna-se mais viável. O CAG requer investimentos iniciais na instalação de estruturas mais complexas e permite regenerações periódicos. Embora mais caro, o carvão granulado utilizado em filtros permite os processos de adsorção e filtração aumentando a eficiência do tratamento (Alves, 2010).

Segundo Alves (2010), a sua eficácia na adsorção de contaminantes depende de vários fatores, nomeadamente:

- **solubilidade do contaminante** - em geral, quanto mais solúvel na água, mais dificuldade deste ser adsorvido pelo carvão
- **polaridade do contaminante** - moléculas com polaridade nula ou baixa são melhor adsorvidas
- **tamanho das moléculas e dos poros do carvão** – tamanho dos poros deve ser 1 a 5 vezes o diâmetro das moléculas a reter
- **pH** – grau de adsorção de substâncias orgânicas aumenta, em geral, com o decréscimo do pH da água.

Relativamente ao ponto de aplicação no processo de tratamento, o CAP é normalmente introduzido depois da coagulação e floculação e previamente à sedimentação e filtração. O uso de filtros de carvão (CAG) deve ocorrer após a filtração de areia e antes da desinfecção final da água. Na figura 2.15 são apresentados os pontos de aplicação de CAP e CAG ao longo de uma linha de tratamento.

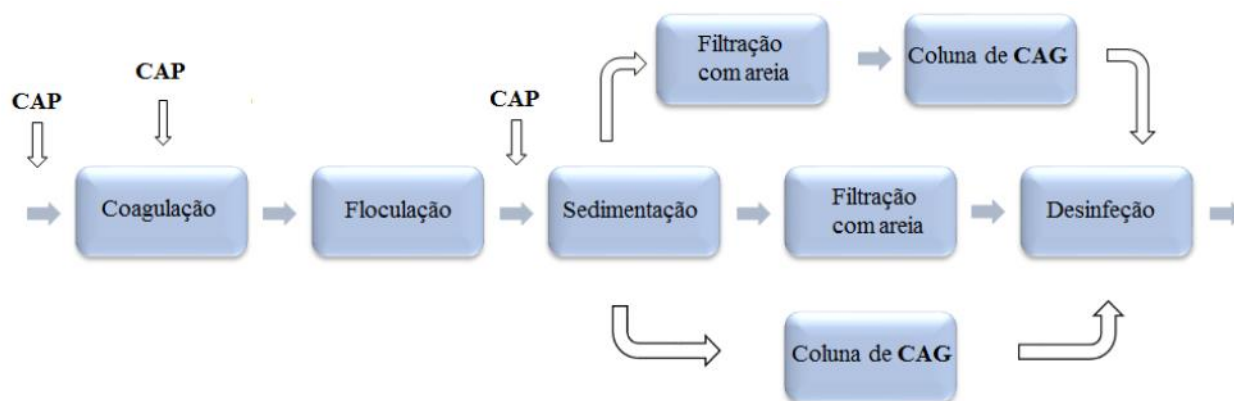


Figura 2.15: Pontos de aplicação de carvão ativado em pó (CAP) e carvão ativado granulado (CAG) (Adaptado de Karanfil, 2006 e Letterman, 1999)

A tecnologia de tratamento de água potável, conhecida como filtração por carvão ativado biológico (CAB), surgiu para superar limitações associadas aos processos convencionais e avançados de tratamento de águas superficiais. O sistema de biofiltração utiliza o carvão ativado granulado como meio filtrante no qual se desenvolvem microrganismos, resultando em taxas superiores na remoção de contaminantes. Deste processo resulta uma água tratada menos propensa a produzir subprodutos indesejáveis (cloração) e mais propensa a manter um valor de cloro residual estável no sistema de distribuição de água (Simpson, 2008; Borges *et al.*, 2016).

2.7.4 Processos de separação por membranas

As membranas podem ser definidas como uma barreira semipermeável e seletiva que restringe a transferência de massa entre duas fases permitindo a passagem de alguns constituintes, ao mesmo tempo que bloqueia a passagem de outros (Alves, 2010; Spellman, 2003).

De uma maneira geral, as membranas atuam como um filtro extremamente fino que permite a passagem da água sob alta pressão podendo, dependendo do processo de separação por membranas, separar, para além de sais e moléculas orgânicas dissolvidas, também bactérias, vírus e microrganismos resistentes a tratamentos químicos (como cloração e ozonização), produzindo uma água purificada (Schutte *et al.*, 2006).

No processo de separação por membranas (figura 2.16) a corrente de alimentação com concentração do composto CF é alimentada em escoamento tangencial ao longo da superfície da membrana e divide-se em duas correntes, o retido e o permeado (Alves, 2010).

O movimento dos compostos através da membrana requer uma força motriz, isto é, uma diferença de potencial entre os dois lados da membrana. Segundo Habert (2006), os

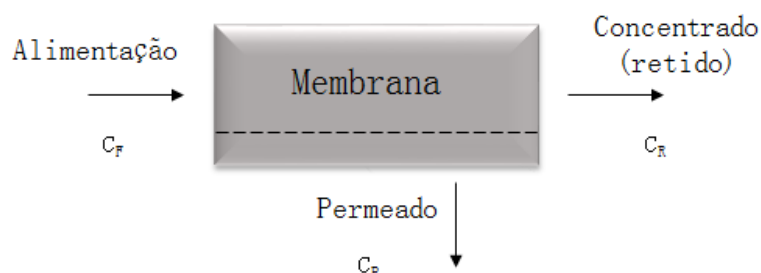


Figura 2.16: Correntes do processo membranar (adaptado de Alves, 2010)

processos comerciais de separação por membrana utilizam como força motriz o gradiente de potencial elétrico e/ou o potencial de pressão, que é o mais utilizado em tratamento de água potável. Os quatro métodos principais de filtração por membrana de pressão são a microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e osmose inversa (OI), em ordem decrescente de tamanho do poro (Dolar *et al.*, 2012).

Os processos de separação por membranas revelam grande interesse devido à maior taxa de remoção de poluentes orgânicos de baixo peso molecular, excelente qualidade do efluente, e capacidade de integração com outros sistemas. No entanto e apesar de suas vantagens, estes processos de filtração são concebidos para concentrar poluentes e não para os degradar, exigindo a frequente limpeza das membranas (Taheran, 2016). Segundo Alves (2010), durante o escoamento tangencial através da membrana é registrado um declínio no fluxo de permeado ao longo do tempo devido a uma série de fenômenos que criam condições favoráveis ao entupimento (*fouling*) da membrana. Uma vez que a membrana é seletiva, ou seja, permite a passagem apenas de alguns solutos, observa-se uma acumulação dos solutos que são rejeitados pela membrana (Alves, 2010).

Este declínio no fluxo é influenciado pela composição e dimensão dos poros das membranas e pelos parâmetros físicos e químicos constituintes da água bruta, tal como partículas inorgânicas em suspensão e matéria orgânica, como substâncias húmicas (Alves, 2010). Parâmetros como o tamanho molecular do composto, o pH, forças iônicas e hidrofobicidade podem também afetar a eficiência de remoção pelos processos membranares.

Esta tecnologia serve como barreira que varia no tamanho efetivo dos seus poros e, portanto, cada técnica de filtração é otimizada para remover um grupo-alvo de contaminantes da maneira mais econômica baseada no tamanho do soluto. À medida que se passa de MF para UF e NF / OI, o tamanho (ou peso molecular) dos solutos separados diminui e, conseqüentemente, o tamanho do poro da membrana é menor (Schutte *et al.*, 2006). A figura 2.17 apresenta os constituintes de uma água capazes de serem removidos por cada tipo de membrana e a tabela 2.19 expõe as características das diferentes membranas, como a dimensão do poro e a pressão aplicada, bem como o material retido em cada uma.

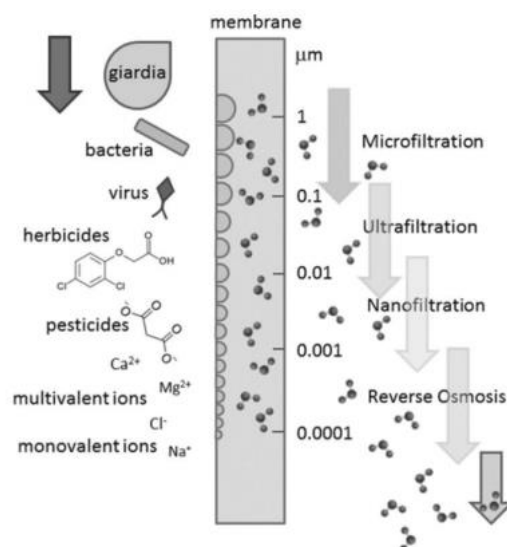


Figura 2.17: Capacidade de separação dos processos de separação por membranas (Rodriguez-Narváez *et al.*, 2017)

Tabela 2.19: Características dos processos de separação por membranas (Adaptado de Alves, 2010 e Schutte *et al.*, 2006)

Processo	Material retido	Dimensão do poro	Pressão aplicada
Microfiltração (MF)	Material em suspensão (0,1 - 10 μm); bactérias maiores (Giardia); remoção parcial de vírus	0,03 - 10 μm	0,1 - 1 bar
Ultrafiltração (UF)	Colóides; macromoléculas; proteínas; remoção da Giardia; remoção parcial de vírus	0,002 - 0,1 μm	0,5 - 5 bar
Nanofiltração (NF)	Barreira absoluta a cistos e vírus	0,001 - 0,002 μm	1,5 - 40 bar
Osmose Inversa (OI)	Sais; pequenas moléculas orgânicas; barreira absoluta a cistos e vírus	-	20 - 100 bar

2.8 Eficiências de Remoção

A maioria das estações de tratamento de águas residuais (ETAR) e águas de abastecimento (ETA) foram concebidas para remover organismos patogénicos, matéria orgânica e inorgânica, e não projetadas para a remoção de poluentes demasiado polares, como os antibióticos (Xu *et al.*, 2007, Jelic *et al.*, 2012). Como tal, é de grande importância o estudo de soluções económicas e adequadas que maximizem a remoção destes compostos de águas utilizadas para produção das água para consumo.

A eficiência de uma ETA na degradação ou remoção de compostos farmacêuticos depende de vários fatores, entre os quais, a qualidade da água de origem, o tipo e modo de operação de cada processo de tratamento e as características físico-químicas dos próprios compostos (Jelic *et al.*, 2012). No caso dos antibióticos, são compostos que apresentam estruturas e propriedades muito diferentes entre si, pelo que será importante avaliar se o mesmo processo é igualmente eficiente na remoção de classes de antibióticos distintas.

Para além disso, é provável que não exista apenas um processo de tratamento eficaz na sua remoção, mas sim uma combinação de procedimentos distintos.

No tratamento de água, existem diversos processos físicos ou químicos que podem ser utilizados para a remoção destes contaminantes, nomeadamente processos de oxidação (métodos destrutivos), e processos de adsorção e processos de separação por membranas (processos não destrutivos/mudança de fase). A escolha da técnica aplicada depende do nível de concentração do contaminante no efluente a tratar e da sua própria eficiência.

De uma forma geral, processos convencionais de tratamento de águas como coagulação/floculação, sedimentação, e filtração em areia (filtros de areia) são ineficazes na remoção de compostos farmacêuticos e produtos de cuidado pessoal (PPCP) (<30%) (Huerta-Fontela *et al.*, 2011) e segundo Liu *et al.* (2016) a remoção de antibióticos é inferior a 10%. De acordo com WHO (2012) os processos de degradação com cloro oxidam cerca de metade dos produtos farmacêuticos investigados, sendo a cloramina a menos eficiente. Os antibióticos sulfametoxazol, trimetoprim e eritromicina, estão entre os compostos que apresentaram alta remoção por cloro livre (Khiari, 2007 citado por WHO, 2012).

No que diz respeito às tecnologias avançadas de tratamento de águas, como por exemplo, a ozonização, adsorção por CAG, filtração por membranas e radiação ultravioleta (UV), alguns estudos têm reportado que podem ser eficientes na remoção da maioria das concentrações vestigiais de PPCP e de compostos endocrinológicos (Boleda, 2011).

2.8.1 Processos de oxidação

2.8.1.1 Ozono

Um estudo elaborado por Adams *et al.*, (2002) teve como objetivo determinar a eficiência de processos de tratamento de água convencionais na remoção de antibióticos comumente encontrados nas origens de água de abastecimento, sob condições típicas de uma ETA. Foram analisadas duas amostras de água, uma delas água destilada/desionizada e outra proveniente do rio Missouri. A figura 2.18 ilustra o processo de ozonização ocorrido no qual foi usada uma dosagem de ozono de 0,3 mg/L.

Foram observadas rápidas reações entre o ozono e os antibióticos em estudo, pelo que se constatarem remoções superiores a 95% de cada composto ao minuto 1.3.

O estudo realizado por Liu *et al.* (2013a) pretendeu, semelhantemente ao anterior, simular a remoção de antibióticos tipicamente detetados em origens de água através de ozonização. O sulfametoxazol pertencente ao grupo das sulfonamidas, e a eritromicina, do grupo dos macrólidos foram os antibióticos analisados e tinham inicialmente uma concentração de 500 ng/L na amostra de água. A água foi submetida a ozonização durante 30 minutos com diferentes dosagens de ozono. Os resultados (valor da razão da concentração final e da concentração inicial) são apresentados na figura 2.19.

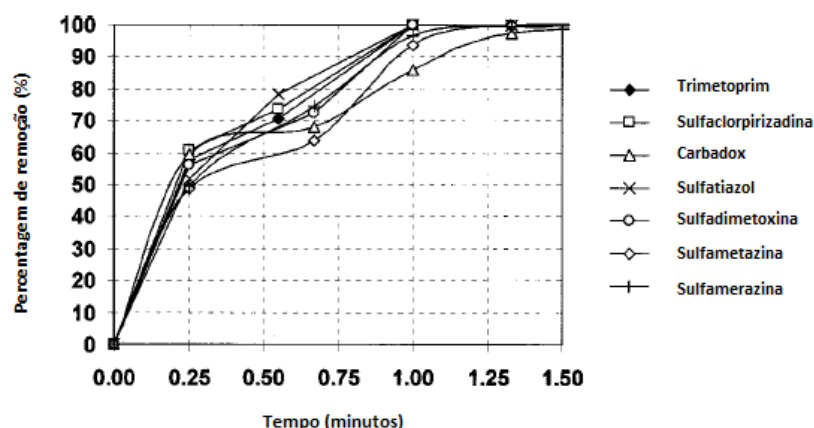


Figura 2.18: Percentagem de remoção dos compostos versus tempo de ozonização (Adams *et al.*, 2002)

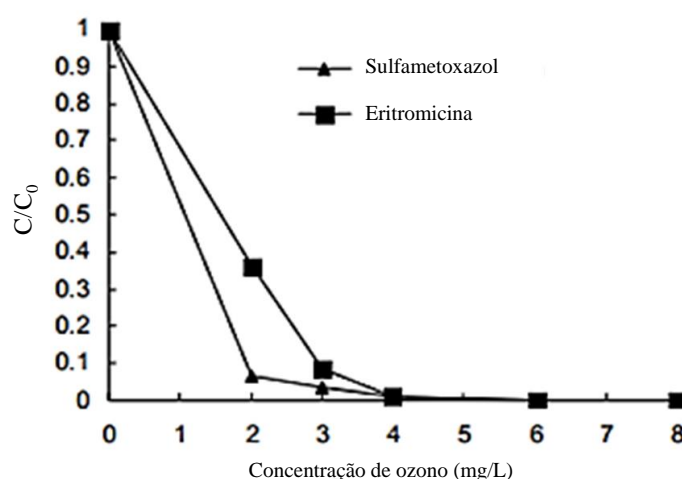


Figura 2.19: Efeito da dosagem de ozono na remoção de antibióticos (Liu *et al.*, 2013a)

É possível observar que o sulfametoxazol foi significativamente removido, apresentando uma eficiência de remoção de 93% para uma dosagem de ozono de 2 mg/L. A eritromicina foi também substancialmente removida, atingindo uma eficiência de remoção de 91% quando utilizada uma dosagem de ozono de 3 mg/L.

Quando foi utilizada uma concentração de ozono de 6 mg/L observou-se remoção quase total dos dois antibióticos, no entanto, as concentrações mínimas de ozono necessárias para a degradação de sulfametoxazol e eritromicina foram 2 mg/L e 3 mg/L, respectivamente, com as condições da água utilizada para o estudo. Segundo o autor, diferentes dosagens de ozono na degradação de ambos os antibióticos devem-se a diferentes estruturas dos fármacos. Ao contrário da eritromicina (estrutura totalmente saturada), o sulfametoxazol apresenta ligações C-C insaturadas, as quais o O_3 ataca preferencialmente

(Liu *et al.*, 2013a).

Macsek *et al.* (2017) também estudou a ozonização de vários compostos farmacêuticos, chegando à conclusão que com uma dosagem de 0,024 mmol/L de ozono removia completamente os seguintes antibióticos: azitromicina, claritromicina, eritromicina, roxitromicina, sulfatiazol e sulfametoxazol.

2.8.1.2 Cloro

Com o objetivo de avaliar o potencial do dióxido de cloro (ClO_2) na oxidação de produtos farmacêuticos durante o tratamento de água, Huber *et al.* (2005) estudaram amostras provenientes de água subterrânea da cidade de Duebendorf na Suíça. À água subterrânea foram adicionadas 4 sulfonamidas com concentração 1 $\mu g/L$, e 4 macrólidos com 100 ng/L, a qual foi posteriormente tratada com ClO_2 , administrado com uma dosagem de 0.1 mg/L. A figura 2.20 demonstra a concentração residual relativa dos compostos investigados verificados após 5, 30 e 180 min.

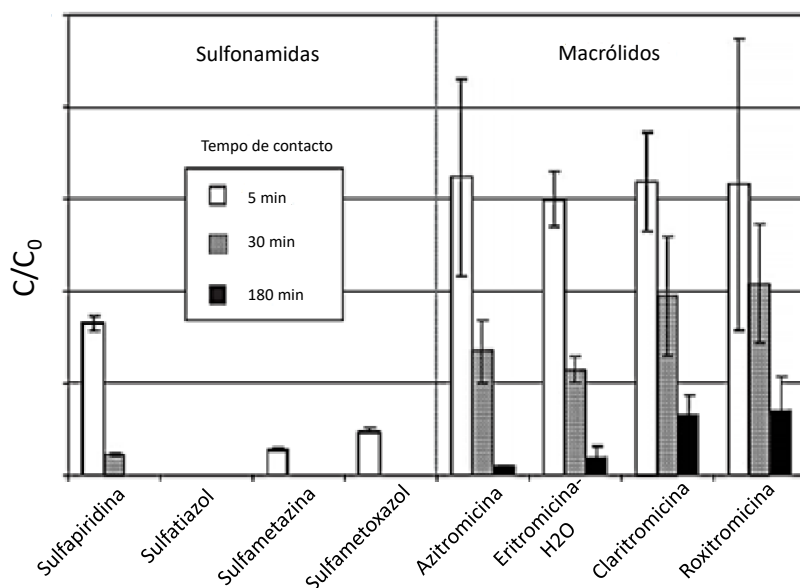


Figura 2.20: Concentração residual relativa dos antibióticos selecionados das classes sulfonamidas e macrólidos na água subterrânea em função do tempo de contacto. Condições experimentais: $ClO_2 = 0,1$ mg/L; pH=7,5; T=20°C; Sulfonamidas = 1 $\mu g/L$; Macrólidos = 100 ng/L (Huber *et al.*, 2005)

Após um período de contacto de 30 minutos, os antibióticos sulfametoxazol, sulfametazina, sulfapiridina e sulfatiazol sofreram oxidação a mais de 95% da sua concentração total. Apesar das semelhanças estruturais deste grupo a reatividade das diferentes sulfonamidas ao ClO_2 variou um pouco mais do que o esperado, no entanto estas variações podem ser explicadas pelas suas diferentes especificações. Através da figura 2.20 é fácil constatar que a sulfapiridina constitui, relativamente ao grupo das sulfonamidas, o antibiótico menos oxidável pelo dióxido de cloro.

Por outro lado, os macrólidos analisados foram oxidados mais lentamente do que as sulfonamidas e a extensão da oxidação do composto original apenas atingiu mais de 80% após 180 min.

No estudo de Wang *et al.* (2010) realizado à escala laboratorial foi investigado o comportamento de alguns antibióticos da classe das fluoroquinolonas durante o processo de desinfecção por dióxido de cloro (ClO_2). As eficiências de remoção de cada antibiótico são apresentadas na figura 2.21.

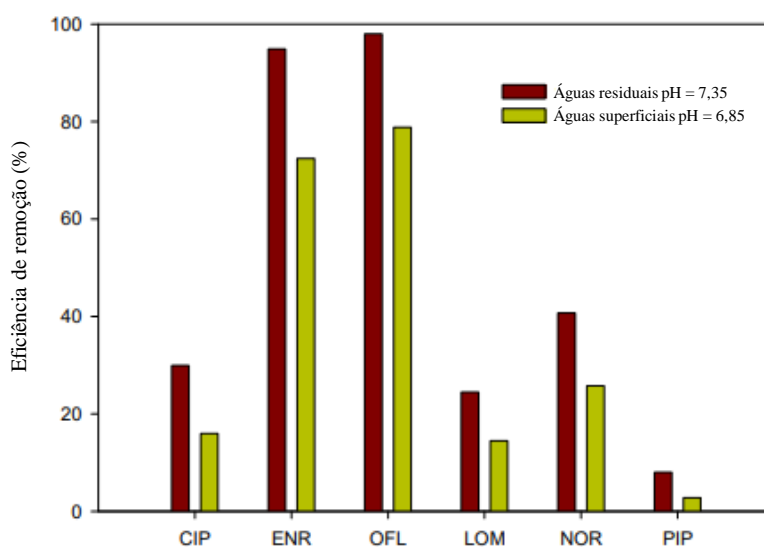


Figura 2.21: Eficiências de remoção esperadas de várias fluoroquinolonas de águas residuais e superficiais ($\text{ClO}_2 = 1 \text{ mg/L}$; 30 min)(Wang *et al.*, 2010)

Segundo os autores, as fluoroquinolonas que contenham aminas terciárias na sua composição (ofloxacina (OFL) e enrofloxacin (ENR)) reagem com o dióxido de cloro mais rapidamente que a ciprofloxacina (CIP), norfloxacina (NOR), lomefloxacina (LOM) e ácido pipemídico (PIP), os quais contêm aminas secundárias.

Chamberlain e Adams (2006) propuseram-se, também, a estudar a eficácia da oxidação de antibióticos pertencentes às classes das sulfonamidas e dos macrólidos em condições análogas ao tratamento de água potável, desta vez, com a aplicação de cloro livre. O estudo compreendeu remoção dos fármacos de água filtrada proveniente do rio Missouri.

A figura 2.22 ilustra a remoção oxidativa de seis sulfonamidas de água de superfície para situações de valores de pH diferentes. É possível observar que as sulfonamidas podem ser facilmente removidas da água potável a níveis de pH quase neutros (6.1 e 7.6), mas que, em níveis de pH mais altos, apenas uma remoção parcial pode ser observada. Em condições experimentais de 25°C e tempos de reação de até 2 h, uma concentração inicial de 1 mg/L de cloro livre removeu uma média de 88% dos antibióticos num intervalo de pH de 6.1 - 9.1.

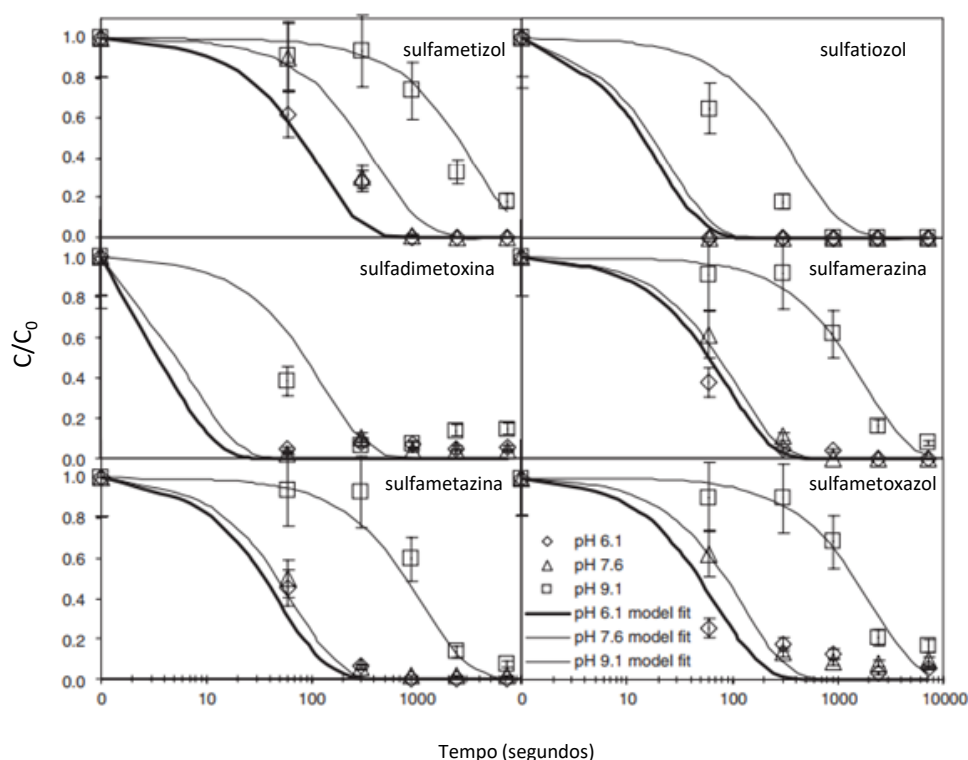


Figura 2.22: Remoção oxidativa de seis sulfonamidas, em águas superficiais, por cloro livre (1 mg/L) e em função do pH (Chamberlain & Adams , 2006)

No caso dos macrólidos selecionados, e com as mesmas condições experimentais, a remoção média em águas superficiais foi de 69%.

Segundo WHO (2011), compostos que apresentaram alta remoção por cloro livre, mas baixa remoção por cloraminas incluem antibióticos, como sulfametoxazol, trimetoprim e eritromicina.

2.8.1.3 Radiação Ultravioleta

No seguimento do estudo de Adams *et al.* (2002) foi avaliada a eficiência de remoção de antibióticos através da fotólise por radiação ultravioleta. As lâmpadas utilizadas para o efeito emitiram radiação com comprimento de onda de 254 nm e a radiação emitida foi variável ao longo da experiência (figura 2.23).

A análise dos resultados da fotólise por radiação ultravioleta requer uma comparação com as dosagens UV comumente utilizadas na desinfecção da água. Segundo Adams *et al.* (2002) as doses típicas de ultravioleta para desinfecção de água são da ordem de 30 mJ/cm². Apesar das doses de UV de 3 000 mJ/cm², aplicadas no estudo, cada um dos antibióticos examinados foi removido da água destilada e do rio Missouri apenas com percentagens entre 50 e 80 %. Embora administradas dosagens na ordem de 100 vezes

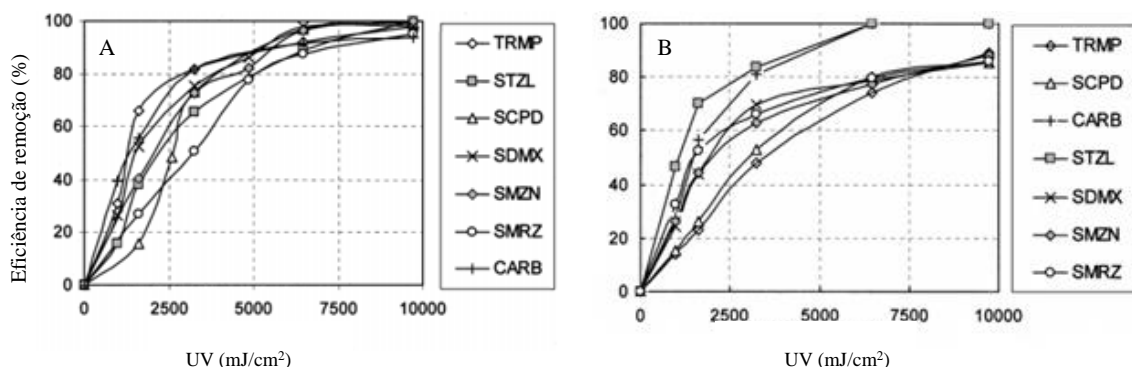


Figura 2.23: Eficiência de remoção dos compostos estudados em função da dosagem de UV (254 nm) em água destilada (A) e na água superficial do rio Missouri (B) (Adams *et al.*, 2002)

mais do que a dosagem de desinfecção típica utilizada, é evidente que a radiação UV a 254 nm não é eficaz na remoção dos antibióticos do estudo (Adams *et al.*, 2002).

Ou *et al.* (2016) propôs-se a estudar a degradação da ciprofloxacina através de radiação UV com diferentes comprimentos de onda, nomeadamente 255, 265, 280, 310 e 365 nm (figura 2.24).

As radiações com 280 e 310 nm resultaram numa remoção significativa da ciprofloxacina (10 mg/L), no entanto os restantes comprimentos de onda apenas induziram ligeiras variações. Na experiência, a maior eficiência de remoção atingiu 66% após 60 min de irradiação UV-LED a 280 nm.

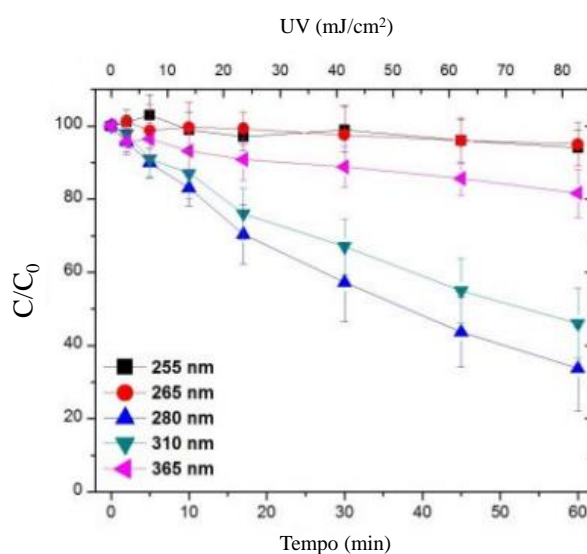


Figura 2.24: Eficiência de remoção da ciprofloxacina através de radiação UV com diferentes comprimentos de onda (Ou *et al.*, 2016)

No estudo de Snyder (2010), a inativação por parte de radiação UV apresentou eficiências inferiores a 20% para a maioria dos compostos (tabela 2.20). Entre eles, os antibióticos eritromicina e trimetoprim, os quais foram submetidos a uma radiação de 40 mJ/cm^2 . O sulfametoxazol apresentou a maior taxa de remoção, na classe dos antibióticos.

Tabela 2.20: Remoção de antibióticos por UV (Adaptado de Snyder, 2010)

Remoção <20%	Remoção 50 - 80 %
Eritromicina; Trimetoprim	Sulfametoxazol

2.8.2 Processos avançados de oxidação

Snyder *et al.* (2006) realizou experiências à escala laboratorial e à escala piloto com amostras de água provenientes de rio Colorado, nos Estados Unidos da América. Com a experiência, os autores, pretendiam estudar a remoção de diversos contaminantes da água com a utilização de dosagens de O_3 entre 1 - 3 mg/L, inclusive com e sem adição de H_2O_2 . A tabela 2.21 apresenta os resultados relativos aos antibióticos analisados no estudo.

Tabela 2.21: Remoção de antibióticos com diferentes doses de O_3 e H_2O_2 (Adaptado de Snyder *et al.*, 2006)

O_3 (mg/L)		1,25								2,5							
H_2O_2 (mg/L)		0				0,25				0				0,5			
Tempo de reação (min)		2	6	14	24	2	6	14	24	2	6	14	24	2	6	14	24
Contaminante	Concentração (ng/L)	% remoção															
Eritromicina	12	>89				>92				>92				>92			
Sulfametoxazol	327	99				>99				>99				>99			
Trimetoprim	312	>99				>99				>99				>99			

Os resultados demonstraram elevadas taxas de remoção da maioria dos compostos, incluindo os antibióticos analisados. O sulfametoxazol e o trimetoprim foram os antibióticos que alcançaram eficiências de remoção mais elevadas, com e sem o uso de H_2O_2 . Aliás, segundo os autores, após 2 min de tempo de contacto, o ozono foi eficiente na remoção da maioria dos contaminantes da água de superfície. No caso particular dos antibióticos analisados, o uso de H_2O_2 não foi decisivo para o alcance de melhores eficiências de remoção, no geral.

No, já referido, estudo de Liu *et al.* (2013a) foi avaliada a influência que a presença de H_2O_2 na oxidação por ozono teria na remoção dos antibióticos sulfametoxazol e eritromicina. Para tal, o estudo teve em conta diferentes relações molares de H_2O_2/O_3 (0,25:1; 0,5:1; 1:1; 2:1 e 4:1). A figura 2.25 apresenta os resultados do efeito de H_2O_2 na remoção dos dois antibióticos da água.

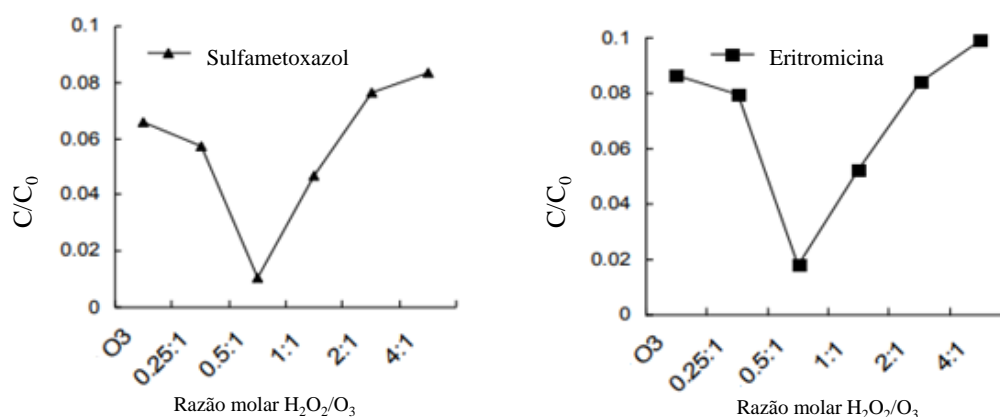


Figura 2.25: Efeito da razão molar H_2O_2/O_3 na remoção do sulfametoxazol ($O_3 = 2$ mg/L; pH = 6,24) e da eritromicina ($O_3 = 3$ mg/L; pH = 6,29) (Liu *et al.*, 2013a)

A eficiência de remoção de compostos antibióticos com H_2O_2/O_3 pareceu acompanhar a seguinte ordem decrescente: 0,5: 1 > 1: 1 > 0,25: 1 > apenas O_3 > 2: 1 > 4: 1. Entre as doses testadas, é possível constatar que a razão molar $H_2O_2/O_3 = 0,5$ demonstrou a máxima remoção do estudo, com eficiências de remoção do sulfametoxazol e da eritromicina de 99% 98%, respectivamente.

Macsek *et al.* (2017) estudaram a remoção de antibióticos da classe das sulfonamidas (sulfametazina, sulfametoxazol, sulfatiazol) e macrólidos (eritromicina, azitromicina, claritromicina e roxitromicina), bem como anti-inflamatórios não esteroides por processos avançados de oxidação, incluindo o processo unitário de ozono, O_3/H_2O_2 e H_2O_2/UV (figuras 2.26, 2.27 e 2.28).

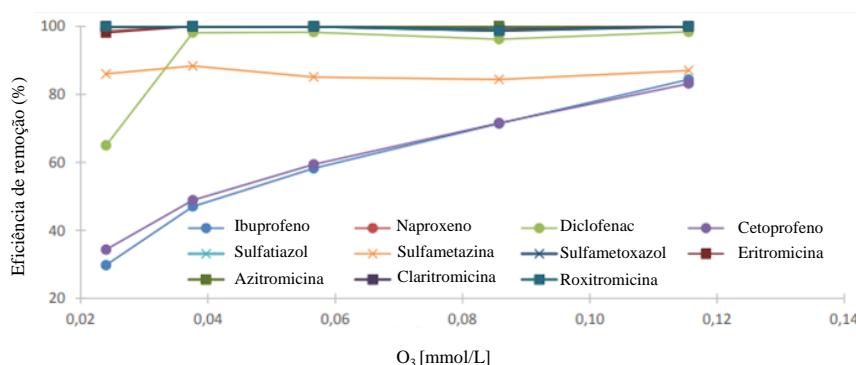


Figura 2.26: Remoção dos compostos estudados por ozonização simples (Macsek *et al.*, 2017)

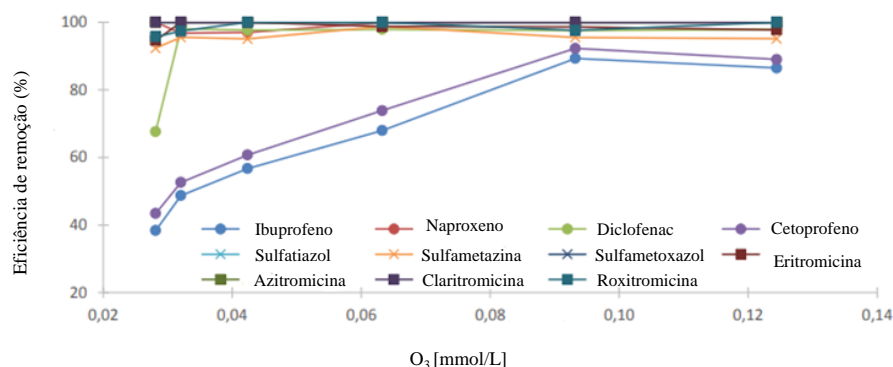


Figura 2.27: Remoção dos compostos estudados por ozonização combinada com H_2O_2 (Macsek *et al.*, 2017)

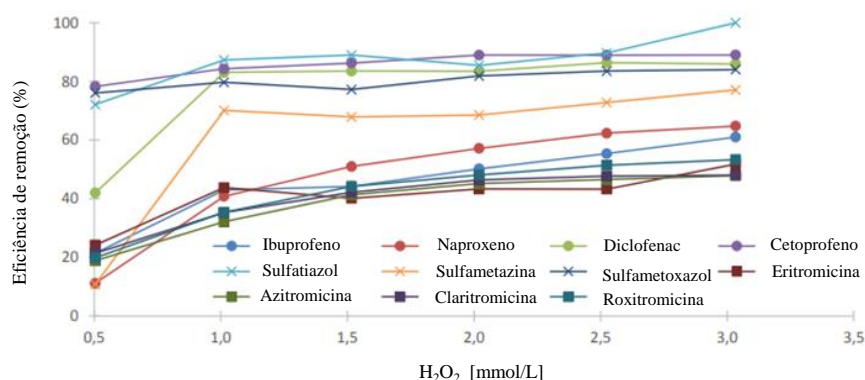


Figura 2.28: Remoção dos compostos estudados por H_2O_2 combinado com UV-C (Macsek *et al.*, 2017)

Com uma dosagem muito baixa de ozono (0,024 mmol/L) observaram-se remoções completas de todos os macrólidos, sulfatiazol, sulfametoxazol e do naproxeno (figura 2.26). A adição de peróxido de hidrogénio na razão $H_2O_2/O_3 = 0,5$ (figura 2.27) aumentou a remoção de sulfametazina e de ibuprofeno numa média de 9% e em 12% para o Cetoprofeno. A experiência com H_2O_2 combinada com radiação UV (figura 2.28) não mostrou nenhuma melhoria significativa na remoção em comparação com a simples ozonização (exceto Cetoprofeno devido à absorção UV-C).

De todas as combinações testadas de processos de oxidação, a combinação H_2O_2/O_3 foi a mais eficiente na remoção dos poluentes estudados, para a qual a eficiência de remoção dos poluentes esteve sempre acima de 90% e a maioria deles foi completamente removida.

2.8.3 Carvão Ativado

O carvão ativado granular (CAG) ou em pó (CAP) pode obter elevadas eficiências de remoção de compostos farmacêuticos alvo, especialmente compostos hidrofóbicos. A eficiência de remoção é uma função do tempo de contato, carga orgânica, estrutura química, solubilidade e tipo de carbono (WHO, 2012). Compostos como o ioprometo, ibuprofeno, meprobamato, sulfametoxazol e diclofenaco demonstraram ser mais resistentes à remoção por carbono ativado (Khiari, 2007 citado por WHO, 2012).

Como referido anteriormente, Adams *et al.* (2002) estudaram a eficiência de processos de tratamento de água típicos na remoção de sete antibióticos diferentes. No processo de adsorção por carvão ativado em pó (CAP) foram analisadas diferentes dosagens (0, 5, 10, 20 e 50 mg/L) implementando-se um período de contacto de 4 horas de modo a simular mais fielmente o processamento real de uma ETA (figura 2.29).

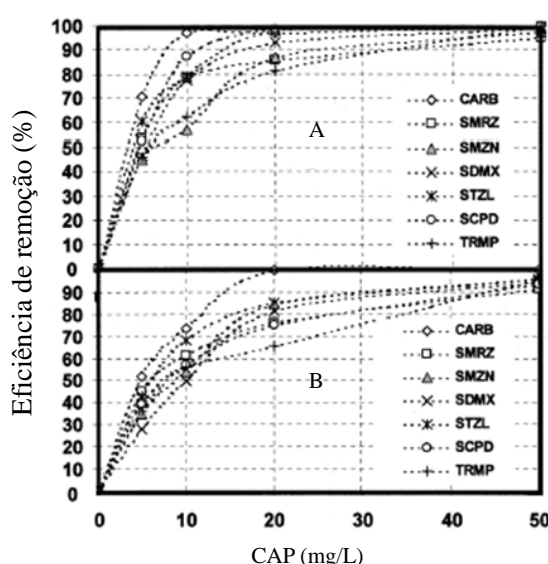


Figura 2.29: Percentagem de remoção dos compostos estudados com CAP na amostra de águas destilada (A) e da água do rio Missouri (B) versus dosagem de CAP (mg/L) (Adams *et al.*, 2002)

Na água destilada, a remoção de cada antibiótico variou entre 57 e 97 % e de 81 a 98 % para doses de CAP específicas de 10 e 20 mg/L, respetivamente. Na amostra de água proveniente do rio Missouri, a remoção de cada um dos antibióticos variou entre 49 e 73 % e para doses de CAP de 10 e para 20 mg/L obtiveram-se valores de remoção entre 65 a 100 %. É possível observar na figura 2.29, que com a administração de uma dosagem de carvão ativado em pó de 50 mg/L, ambas as amostras de água analisadas atingiram percentagens de remoção superiores a 90 % para todos os compostos.

Os resultados demonstram que a adsorção de CAP fornece um sistema viável com o qual é possível remover estes produtos farmacêuticos em doses comuns de CAP (Adams

et al., 2002).

Liu *et al.* (2013b) estudaram as características e o desempenho do CAP na remoção de antibióticos em água à escala laboratorial, o que poderá constituir referência para a remoção de antibióticos de origens de águas usadas para tratamento de águas para consumo. As taxas de remoção do sulfametoxazol são apresentadas na figura 2.30.

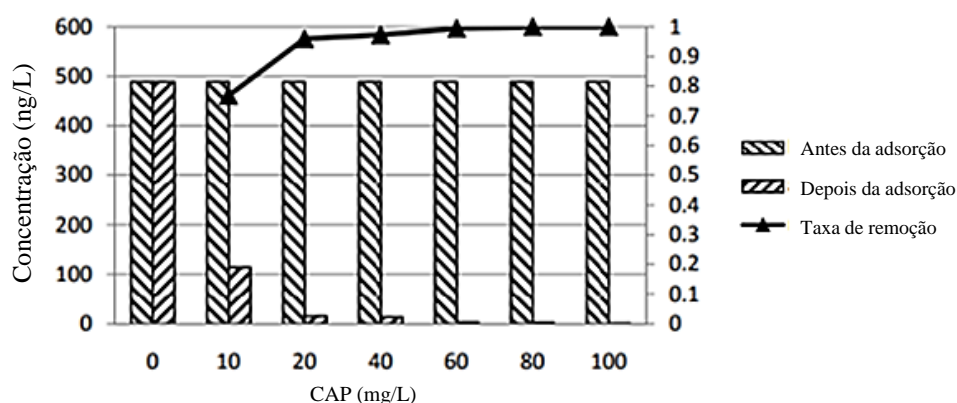


Figura 2.30: Concentrações de sulfametoxazol versus dosagem de CAP. Taxa de remoção do antibiótico (Liu *et al.*, 2003b)

É observado um aumento da eficiência de remoção de sulfametoxazol proporcional à dosagem de carbono ativado em pó. Quando aplicada uma dosagem de CAP de 10 mg/L a taxa de remoção de sulfametoxazol foi 76,71% e para doses de CAP iguais ou superiores a 20 mg/L, a sua taxa de remoção aumentou para 95%.

O estudo pretendeu, ainda, analisar o efeito que diferentes dosagens de carvão ativado em pó (0 mg/L, 2 mg/L, 6 mg/L, 12 mg/L, 18 mg/L e 24 mg/L) teriam em antibióticos distintos (figura 2.31).

Pela análise da figura 2.31 pode observar-se que a concentração de todos os antibióticos nas amostras de água diminui com o aumento da dosagem de CAP. Este processo de tratamento possui uma grande capacidade de remoção de antibióticos, sendo que as taxas de remoção dos antibióticos testados aumentaram com aumento na dosagem de CAP dentro de um determinado intervalo. Para uma dosagem de CAP de 24 mg/L, a taxa máxima de remoção de sulfametoxazol, sulfadimidina, eritromicina, oxitetraciclina e tetraciclina atingiu 79,84 %, 80,05 %, 83,32 %, 94,62 % e 96,88 % respetivamente (Liu *et al.*, 2013b).

Os resultados indicam que as características de adsorção do CAP são diferentes para tipos de antibióticos díspares. A capacidade do CAP na adsorção da tetraciclina e da oxitetraciclina foram superiores aos restantes antibióticos.

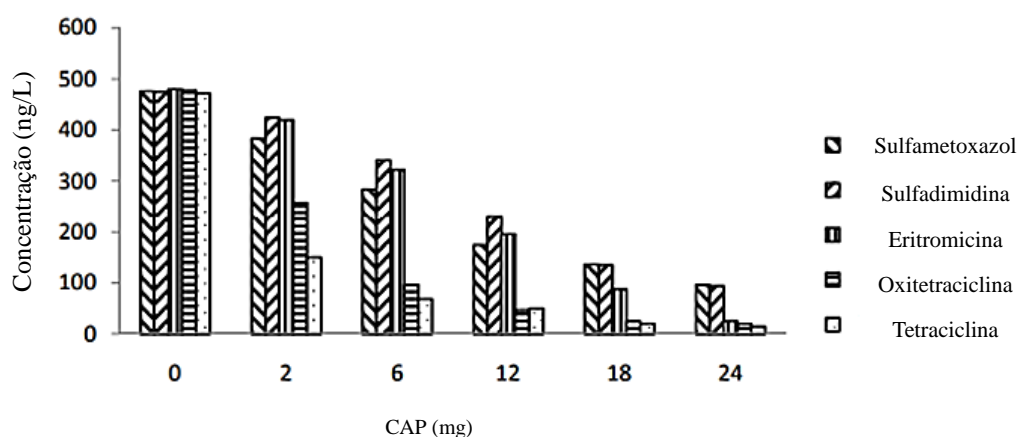


Figura 2.31: Concentrações dos antibióticos versus dosagem de CAP (Liu *et al.*, 2003b)

No estudo de Zhang *et al.* (2016a) a água superficial ($\text{pH} = 7.1 \pm 0.1$) foi recolhida diretamente da estação de tratamento de água de Tianjin Xinkaihe, na China. A água de amostragem resulta da mistura de 28 antibióticos adicionados à água superficial, em que a concentração inicial de cada antibiótico foi 5000 ng/L. Este estudo teve como objetivo quantificar a capacidade de adsorção dos 28 antibióticos selecionados usando CAP (tabela 2.22).

Os resultados do estudo indicaram um aumento na eficiência de remoção (variou de 70% a 100%) proporcional ao aumento da dosagem de carvão ativado em pó. Foram observadas ligeiras diferenças quando a dosagem de CAP variou entre 20 mg/L e 50 mg/L, e assim foi admitido pelos autores que 20 mg/L seria a dosagem ideal, neste estudo, para a remoção de antibióticos da água. Embora uma maior concentração de CAP possa resultar numa maior eficiência de remoção, também aumenta o custo de tratamento da água (Zhang *et al.* 2016a). Neste estudo, assim como no de Liu *et al.* (2013b) o sulfametoxazol foi o composto com a menor taxa de remoção.

Segundo Ternes *et al.*, (2004) o carvão ativado é um processo poderoso para remover PPCP, apenas um número limitado de compostos como o antibiótico sulfametoxazol, apresentam afinidade insuficiente com este processo de remoção, que é consistente com a sua alta solubilidade na água.

Tabela 2.22: Eficiência de remoção de 28 antibióticos através de diferentes dosagens de CAP (mg/L) (Zhang *et al.*, 2006a)

Classe	Antibiótico	Eficiência de remoção (%)					
		5	10	15	20	30	50
Tetraciclínas	Oxitetraciclina	85,4	94,7	95,9	98,3	98,9	99,0
	Tetraciclina	89,6	96,4	97,9	99,2	99,3	99,4
	Clortetraciclina	94,9	97,9	99,1	99,7	99,8	99,8
	Doxiciclina	89,6	96,8	97,4	98,9	99,2	99,3
Macrólidos	Eritromicina	92,3	93,3	95,4	96,5	97,5	97,5
	Roxitromicina	85,1	88,5	92,3	95,9	95,9	97,0
	Kitasamicina	90,4	93,5	97,8	99,8	99,9	100,0
	Espiramicina	87,5	93,7	97,4	99,9	100,0	100,0
Cloranfenicol	Tianfenicol	92,6	95,9	97,1	99,4	99,4	99,7
	Florfenicol	88,1	93,8	97,3	99,2	99,6	100,0
Penicilina	Cloranfenicol	88,9	93,3	95,6	98,8	99,4	99,8
	Penicilina	76,3	86,4	91,3	96,8	99,4	99,5
Sulfonamidas	Sulfadiazina	75,9	80,8	84,9	91,1	93,9	96,8
	Sulfamerazina	80,4	83,9	88,1	92,8	96,4	96,9
	Sulfametazina	76,9	84,6	88,1	95,4	96,9	98,6
	Sulfametro	74,6	82,4	86,8	95,2	98,3	98,8
	Sulfamonometoxina	76,9	82,6	87,5	93,9	96,2	96,7
	Sulfametizol	73,2	78,4	84,2	90,2	93,7	94,7
	Sulfametoxazol	72,9	76,0	81,5	88,0	90,8	92,1
	Sulfametoxipiridazina	82,6	90,7	93,1	98,2	99,2	99,3
	Sulfacloropiridazina	75,6	81,5	88,3	94,9	96,8	98,9
	Sulfacetamida	76,5	80,1	84,3	89,9	91,0	92,0
	Sulfapiridina	81,0	88,2	93,6	97,8	98,8	99,0
	Sulfadimetoxina	78,8	82,3	87,6	92,2	96,8	97,7
	Sulfaguanidina	80,7	89,5	93,6	97,5	98,9	99,1
	Ácido oxolínico	93,4	98,5	99,1	99,9	100,0	100,0
Quinolonas	Ácido nalidíxico	72,5	88,1	90,8	98,6	99,5	99,9
	Flumequina	82,1	93,4	96,9	99,6	100,0	100,0

No estudo conduzido por Borges *et al.* (2016) realizado à escala laboratorial foi avaliado o carvão ativado granular (CAG) na presença de atividade biológica (CAB) como meio filtrante para a remoção de alguns compostos farmacêuticos, entre eles o antibiótico amoxicilina, pertencente à classe das penicilinas (figura 2.32). Segundo o autor, o uso de filtros de CAB permite remover compostos biodegradáveis através da ação dos microrganismos, além de reduzir os custos de tratamento de água em ETA e prolongar a vida útil dos filtros.

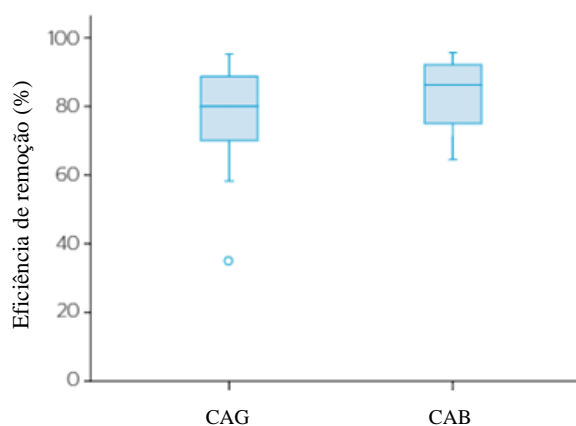


Figura 2.32: Distribuição dos valores de remoção da amoxicilina nos filtros CAG e CAB (Borges *et al.*, 2016)

Os resultados demonstram a remoção da amoxicilina nos filtros biológicos durante o período avaliado, com valores ligeiramente maiores aos registados na filtração apenas com carvão. Neste estudo, o carvão ativado granular selecionado e utilizado foi de casca de coco.

No caso da amoxicilina, bem como dos restantes fármacos analisados, os filtros com microrganismos (CAB) apresentaram uma maior taxa de remoção ($>80\%$) em relação aos filtros não colonizados (CAG) ($<80\%$). Todavia, as duas opções apresentaram um padrão de elevada remoção do antibiótico, demonstrando que os carvões ativados granulares utilizados, bem como as condições experimentais, foram favoráveis à elevada capacidade de adsorção deste fármaco.

2.8.4 Processos de separação por membrana

Os processos de separação por membranas são cada vez mais utilizados em tratamento de águas para consumo humano, embora a sua aplicação em águas contaminadas por compostos farmacêuticos seja ainda pouco frequente e pouco estudada (Taheran *et al.*, 2016).

A ultrafiltração (UF) é um processo de separação por membranas que é raramente utilizado na remoção de compostos farmacêuticos como processo unitário. O facto do peso molecular do cut-off (MWCO) das membranas UF (10-100 kDa) ser, pelo menos, uma ordem de grandeza acima do peso molecular da maioria destes compostos (< 1 kDa) faz com que o mecanismo de retenção por exclusão de tamanho não possa ser considerado como o mecanismo de remoção principal. Porém, é muitas vezes aplicado em sistemas híbridos (tratamentos UF / OI, coagulação-UF, entre outros) (Dolar *et al.*, 2012).

A ultrafiltração foi utilizada para a remoção de 52 compostos EDC/PPCP de três rios naturais num artigo publicado por Yoon *et al.* (2006). Foi usada a membrana UF GM (Desal-Osmonics) em sistema de filtração sem saída e os resultados demonstraram retenções inferiores a 40%, exceto para alguns compostos, incluindo o antibiótico eritromicina (60% de retenção).

Num estudo posterior, Yoon *et al.* (2007) usaram as mesmas condições para a remoção de 27 EDC / PPCP com diferentes propriedades (tamanho do composto / estrutura / polaridade / hidrofobicidade), com as membranas de ultrafiltração (UF) e nanofiltração (NF) (figura 2.33).

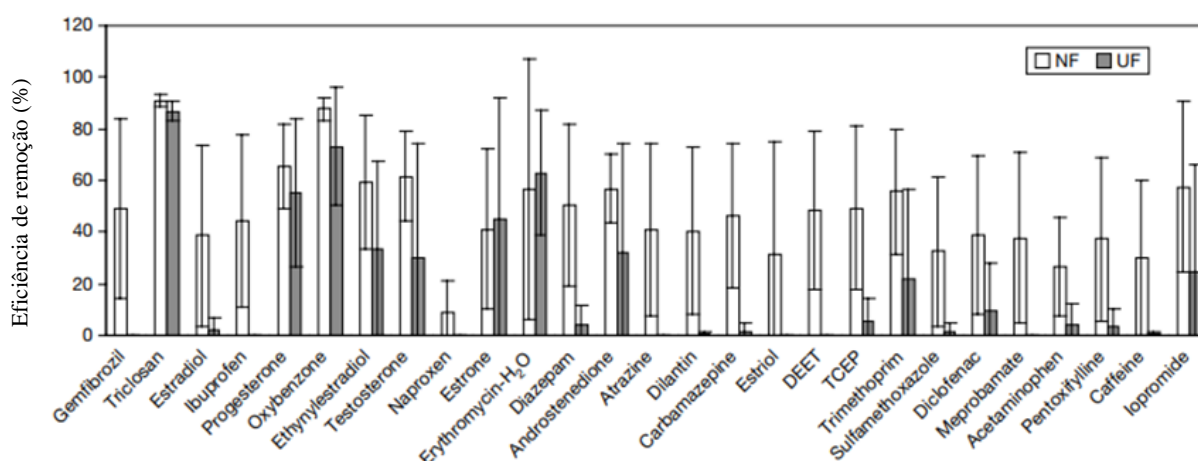


Figura 2.33: Eficiências médias de retenção de EDC/PPCP pelas membranas de nanofiltração e ultrafiltração (Yoon *et al.*, 2007)

A retenção dos compostos pela membrana UF foi inferior a 30%, exceto para alguns compostos com coeficiente de partição octanol-água (valor log k_{ow}) superior a 3 (triclosan 85%, oxibenzona 70%, estrona 45%, progesterona 55% e eritromicina 60%). Por outro lado, a retenção dos compostos por NF situou-se entre os 30 – 90 %.

Entre os antibióticos selecionados e analisados, a eritromicina apresentou as maiores taxas de retenção, tanto para a ultrafiltração como para a nanofiltração, possivelmente devido à sua maior hidrofobicidade. Este antibiótico apresentou-se, inclusive, como dos únicos compostos com maior taxa de retenção para a UF do que para NF.

Também num estudo realizado por Real *et al.* (2012) foi usada a membrana ultrafiltração (MWCO de 5000 Da) como pré-tratamento de processos de oxidação química (O_3 e Cl_2), em diferentes sistemas de água (águas subterrâneas, águas superficiais e efluentes de ETAR municipais), para a eliminação de cinco produtos farmacêuticos (amoxicilina, hidroclorotiazida, metoprolol, naproxeno e fenacetina). Obtiveram-se taxas de rejeição entre 4,1% e 35,1% para as águas superficiais, sendo que a amoxicilina (log k_{ow} = 0,87) obteve as taxas mais baixas.

A remoção por meio da separação por membranas de compostos farmacêuticos, de uma maneira geral, e de antibióticos, particularmente, tem sido limitada porque a maioria destes compostos consegue atravessar as membranas e por esse motivo os processos de MF e UF só devem ser empregados em pré-tratamento (Xu *et al.*, 2017).

Devido à sua alta eficácia de separação, a osmose inversa (OI) e a nanofiltração (NF) são reconhecidas como as principais tecnologias de tratamento de água. A intensa pesquisa e desenvolvimento na preparação de membranas na última década resultou em preços de mercado reduzidos e aplicação em vários tipos de tratamentos de fluidos. Desta forma, as membranas OI e NF tornaram-se competitivas em tecnologia de tratamento de água (Dolar *et al.* 2012).

Conforme sistematizado por Bellona *et al.* (2004), a rejeição de compostos nas membranas OI / NF é afetada pelas propriedades físico-químicas do composto (tamanho, hidrofobicidade, carga), pelas propriedades da membrana, pela composição água e por condições operacionais. O soluto pode ser rejeitado pelas membranas OI e NF por um mecanismo ou uma combinação de três mecanismos básicos: exclusão de tamanho (efeito estereodinâmico), exclusão de carga e interações hidrofóbicas entre soluto, solvente e membrana.

Segundo Taheran *et al.* (2016), a hidrofobicidade de compostos farmacêuticos desempenha um papel importante na sua rejeição por membranas NF. Os compostos hidrofílicos são dissolvidos em fase aquosa e, conseqüentemente, o seu diâmetro efetivo pode ser maior. Portanto, em termos de exclusão de tamanho, o composto hidrofílico pode ser rejeitado de forma mais eficaz que os hidrofóbicos (Braeken *et al.*, 2005 citado por Taheran *et al.*, 2016).

Dolar *et al.* (2012) realizaram um estudo que permitiu averiguar as eficiências de remoção de vários antibióticos veterinários através de diferentes membranas com tamanhos de poros distintos (0,73 nm – 2,03 nm). A figura 2.34 apresenta as taxas de remoção dos antibióticos da água, num estudo onde foram utilizadas duas membranas de osmose inversa ((LFC-1 e XLE)) e quatro membranas de nanofiltração (NF90, NF270, NF e HL).

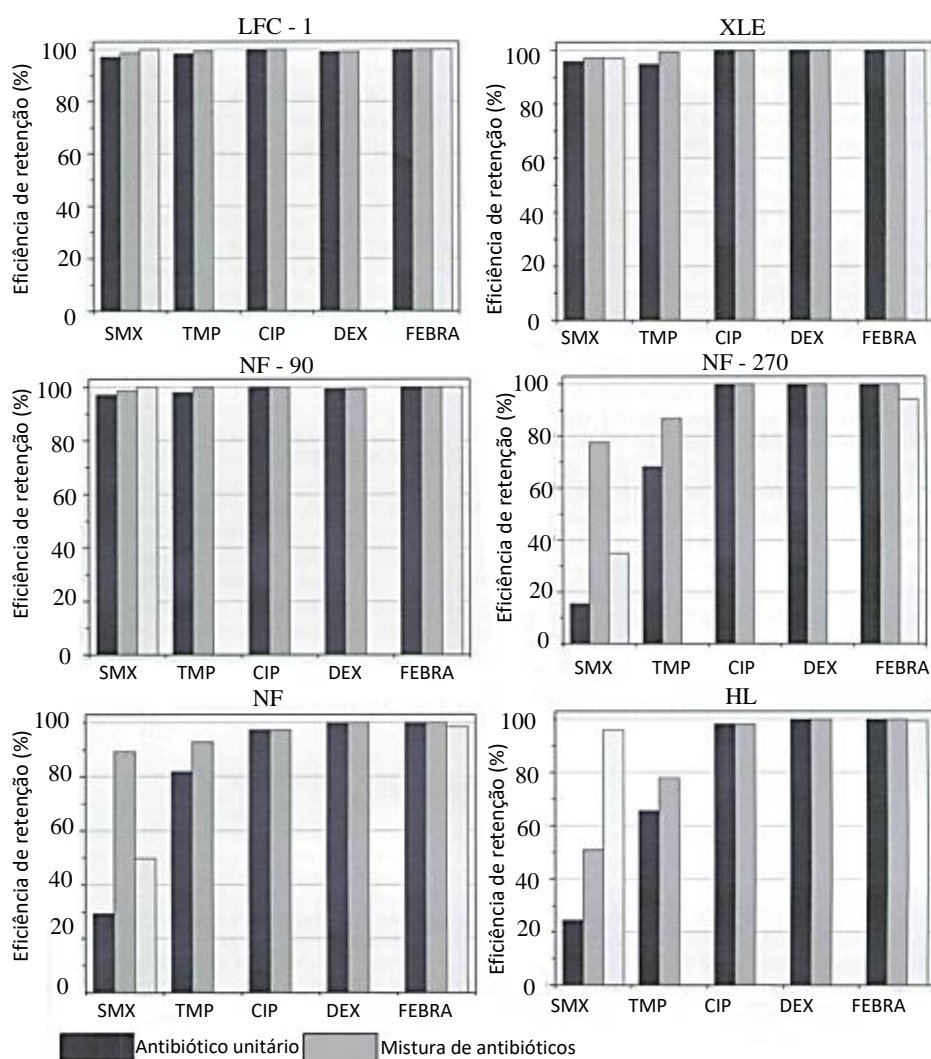


Figura 2.34: Eficiências médias de retenção de antibióticos veterinários pelas membranas de nanofiltração e osmose inversa (Dolar *et al.*, 2012)

O antibiótico estudado mais pequeno (sulfametoxazol) apresenta um diâmetro na água de 0,734 nm o qual é inferior à maioria das membranas analisadas. Por essa razão não foi completamente removido da água (15-97 %), sendo que a sua rejeição aumentou com a diminuição do tamanho de poro das membranas. Os tamanhos de poros reduzidos das membranas LFC-1 (OI) e NF90 e o diâmetro do sulfametoxazol (SMX) resultaram nas suas maiores taxas de rejeição.

O trimetoprim (TMP) com um diâmetro similar ao SMX apresentou taxas de remoção praticamente idênticas. Uma rejeição ligeiramente menor de SMX e TMP com a membrana XLE (OI) é explicada por ter poros maiores do que LFC-1 (OI) e NF90. A ciprofloxacina (CIP), a dexametasona (DEX) e o febantel (FEBRA), com diâmetros de 0,826, 0,889 e 0,941 nm, respetivamente, são superiores aos tamanhos de poro de ambas as membranas de osmose inversa e da NF90, o que resultou na sua remoção completa.

A membrana NF270 teve a menor incidência de poros de 0,70 nm e, portanto, a menor rejeição para SMX (15 %). A rejeição do sulfametoxazol foi semelhante para as membranas NF e HL, 29 e 24 %, respetivamente.

Como se pode observar pela figura 2.34, foi simultaneamente registada a rejeição de misturas de antibióticos pelas membranas. Os resultados demonstram um maior nível de rejeição através desta modalidade do que um composto único, o qual prova a sinergia positiva quanto à eficácia de remoção.

De uma maneira geral, uma grande remoção de todos os antibióticos estudados foi alcançada com membranas OI (LFC, XLE) e a membrana NF com um *cut off* menor (NF90) (Dolar *et al.*, 2012).

Similarmente, Radjenovic *et al.* (2008) estudou a remoção de diversos fármacos, entre eles o antibiótico sulfametoxazol, durante a NF e OI, e neste caso, numa ETA com utilização de amostras de águas subterrâneas da zona do nordeste de Espanha.

As rejeições médias de sulfametoxazol nas membranas NF e OI foram de 96,4 % e 100 %, respetivamente, corroborando o estudo de Dolar *et al.* (2012). Segundo Radjenovic *et al.* (2008) a alta eficiência de remoção pelas membranas foi provavelmente resultado da combinação de mecanismos de exclusão de tamanho e força elétrica repelente entre os solutos e a membrana.

As membranas NF200 e NF90 foram utilizadas por Quintanilla (2010) para a remoção de contaminantes orgânicos com diferentes cargas eletrostáticas (figura 2.35). Embora o estudo evidencie apenas um antibiótico, o sulfametoxazol (SFM), é possível reconhecer que as eficiências de rejeição de compostos com carga foram superiores às dos compostos neutros. Isto deveu-se aos efeitos das interações entre a carga negativa da superfície da membrana e a carga negativa das espécies carregadas ionicamente (Quintanilla, 2010).

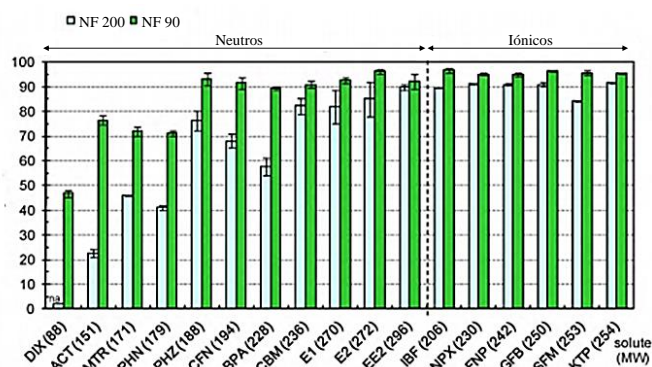


Figura 2.35: Eficiências de retenção de EDC/PPCP pelas membranas de nanofiltração (Quintanilla, 2010)

No caso do NF-90, um efeito combinado de repulsão eletrostática e exclusão de tamanho produziu maiores rejeições do que o NF-200 (mais 'largo').

2.8.5 Sistemas de tratamentos

Padhye *et al.* (2014) avaliaram a eficiência de um sistema de uma estação de tratamento de águas de abastecimento à escala real, ao longo de um ano. O sistema de tratamento, situado nos Estados Unidos, é dotado das seguintes etapas: pré-ozonização, coagulação, floculação, sedimentação, ozonização intermédia, filtração (areia + CAG) e cloração (figura 2.36).

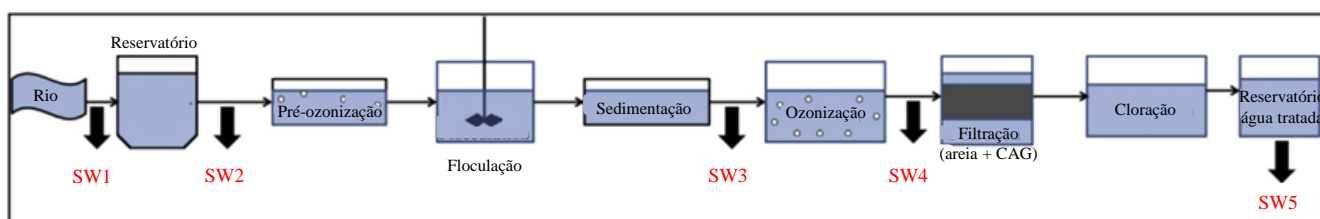


Figura 2.36: Esquema do sistema de tratamento da ETA (Padhye *et al.*, 2014)

Amostra recolhida após a sedimentação (SW3)

A amostra recolhida após a sedimentação (SW3) apresentou eficiências de remoção superiores a 50 % para compostos como a cafeína, o ibuprofeno, a claritromicina, sendo que o sulfametoxazol foi eliminado na totalidade. Segundo o autor, para além da claritromicina ($\log k_{ow} = 3.16$) outros PPCP e EDC não são hidrofóbicos e por isso não se esperavam taxas de remoção tao altas na etapa de floculação/sedimentação. A presença da etapa de pré-ozonização pode ter contribuído para a remoção de mais compostos hidrofílicos (Padhye *et al.* 2014), ainda assim a eritromicina- H_2O apenas apresentou uma remoção de 15.6 ± 23.3 %.

Amostra recolhida após a ozonização intermédia (SW4)

Durante esta etapa foram aplicadas dosagens de ozono entre 0,5 e 0,9 mg/L e observaram-se taxas de remoção superiores a 60 % para compostos como a levofloxacina, a cafeína e a claritromicina. Os autores acharam surpreendente o facto da eritromicina- H_2O (21,8 %) apresentar uma eficiência de remoção média significativamente menor do que a claritromicina (68 %) apesar de possuírem uma estrutura similar. Ambos os antibióticos macrólidos têm um grupo funcional dimetilamino o qual é alvo da reação de ozonização (Lange *et al.*, 2006 citado por Padhye *et al.* 2014).

Amostra recolhida após a filtração e cloração (SW5)

Após a fase de filtração e cloração, o trimetoprim e a eritromicina- H_2O apresentaram baixas eficiências de remoção. Neste particular caso, foi comunicado aos autores que o carvão ativado granular (CAG) não tinha sido substituído nos últimos 5 anos anteriores

ao estudo o que pode ter contribuído para a baixa adsorção de compostos hidrofóbicos. A eritromicina- H_2O , o trimetoprim e a claritromicina apresentaram taxas de remoção médias de 7 %, 7,4 % e 36,9 %, respectivamente.

De um modo geral, a combinação de todos os processos de tratamento resultou na remoção de antibióticos com taxas de eficiência de 93.6 ± 6.6 % (claritromicina), 21.0 ± 20.4 % (eritromicina- H_2O), 85.7 ± 37.8 % (sulfametoxazol) e 53.8 ± 30.1 % (trimetoprim).

Boleda *et al.* (2011) estudaram e compararam o desempenho de um sistema de tratamento com processos convencionais e não convencionais (tratamentos avançados) na remoção de drogas e de diferentes classes de compostos farmacêuticos, incluindo os antibióticos.

O sistema de tratamento de água para consumo está representado na figura 2.37 e inclui: dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração de areia e diluição com águas subterrâneas. Seguidamente o sistema é dividido em duas linhas de tratamento paralelas: a) tratamento convencional (70 % do caudal): ozonização e filtração de carbono ativado granular (GAC) e b) tratamento não convencional (30 % do caudal): ultrafiltração (UF) seguido de desinfecção ultravioleta (UV), osmose inversa (OI) e remineralização com calcite. As águas provenientes dos dois sistemas são misturadas e submetidas a uma pós-cloragem final (tabela 2.23).

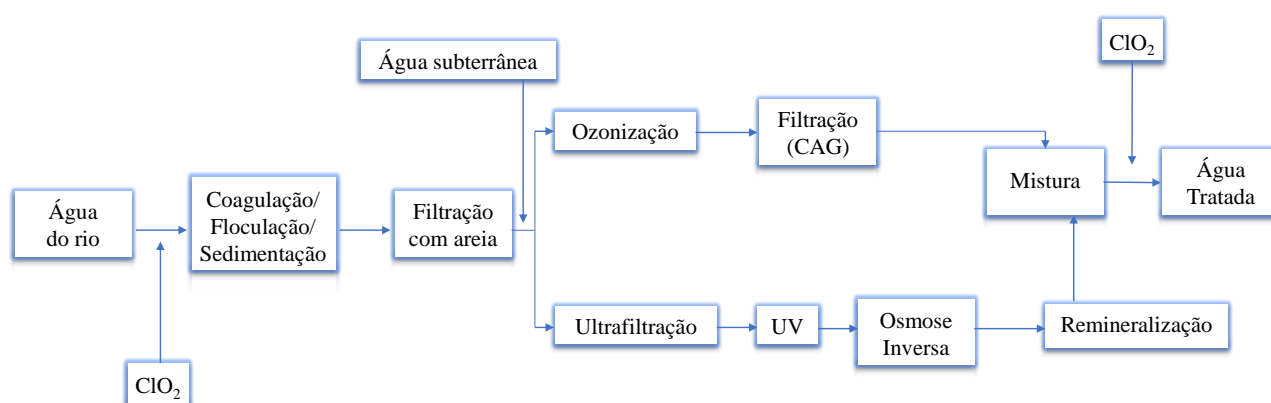


Figura 2.37: Esquema do sistema de tratamento da ETA avaliada (Boleda *et al.*, 2011)

Tabela 2.23: Comportamento dos antibióticos selecionados na ETA usando processos convencionais e não convencionais (Boleda *et al.*, 2011)

	Conc. (ng/L)	Tratamento convencional				Tratamento avançado				Conc. (ng/L)
		Concentração (ng/L)			Remoção (%)	Concentração (ng/L)			Remoção (%)	
		AB	ClO ₂ + FA	O ₃ CAG		UF	OI	Remin.		
AZM	8,0 - 17,6	<LOD - 1,9	-	-	99 ± 0,4	<LOD - 1,6	-	-	99 ± 0,1	1,3 - 2,0
CLA	40,1 - 54,4	1,3 - 6,5	-	-	>99	1,6 - 6,9	-	-	>99	
ERY	21,4 - 33,0	3,6 - 4,8	1,3 - 2,0	0,8 - 1,4	95 ± 1	3,1 - 4,0	1,0 - 2,0	1,1 - 2,0	99 ± 1	
LYM	13,4 - 17,9	-	-	-	99 ± 0,1	-	-	-	>99	
SDM	<LOD - 8,3	-	-	-	97 ± 2	-	-	-	91 ± 7	
SMN	<LOD - 113	<LOD - 2,5	-	-	99 ± 1	<LOD - 1,47	-	-	91 ± 12	
SMX	57,7 - 149	<LOD - 7,0	-	-	>99	<LOD - 2,8	-	-	>99	
TMP	9,5 - 22,8	5,3 - 12,5	-	-	99 ± 0,2	5,57 - 13,0	-	-	>99	
TS	0,5 - 1,6	-	-	-	94 ± 3	-	-	-	99 ± 0,8	

*AB - água bruta; ClO₂ + FA - dióxido de cloro + filtros areia; Remin - remineralização; AT - água tratada
 AZM - Azitromicina; CLA - Claritromicina; ERY - Eritromicina; LYM - Lincomicina; SDM - Sulfadimetoxina;
 SMN - Sulfametazina; SMX - Sulfametoxazol; TMP - Trimetoprim; TS - Tilosina
 - - significa inferior ao limite detetado

Após o uso de dióxido de cloro, todos os antibióticos identificados na entrada da ETA foram substancialmente removidos (> 84 %). Este comportamento está de acordo com os resultados relatados por Huber *et al.* (2005), tanto para sulfonamidas como sulfametoxazol, sulfametazina e sulfadimetoxina como para macrólidos (azitromicina, eritromicina ou claritromicina) (Huber *et al.*, 2005). No entanto, e segundo os autores, a redução moderada da concentração do trimetoprim (47 %), que exibe dois grupos amino reactivos na sua estrutura química, é inesperada.

Os tratamentos de ozonização e OI permitiram eliminar as concentrações vestigiais que resistiram ao primeiro passo de oxidação. Apenas a eritromicina (máximo 2,0 ng/L) foi encontrada na água tratada com uma remoção aproximada de 95 % em tratamento convencional e 99 % em tratamento avançado.

Fan *et al.* (2014) realizou um estudo onde pretendeu desenvolver um sistema de tratamento incluindo: coagulação/floculação, ozonização, filtração UF cerâmica e filtração CAG. O estudo foi realizado numa estação de tratamento à escala piloto, na China, e foi realizado com o objetivo de remover compostos emergentes de origens de águas.

Na figura 2.38 encontram-se representadas as variações das concentrações de 14 PPCP (oito antibióticos) ao longo do sistema de tratamento. Foi comparada, a presença e ausência de ozonização antes da ultrafiltração.

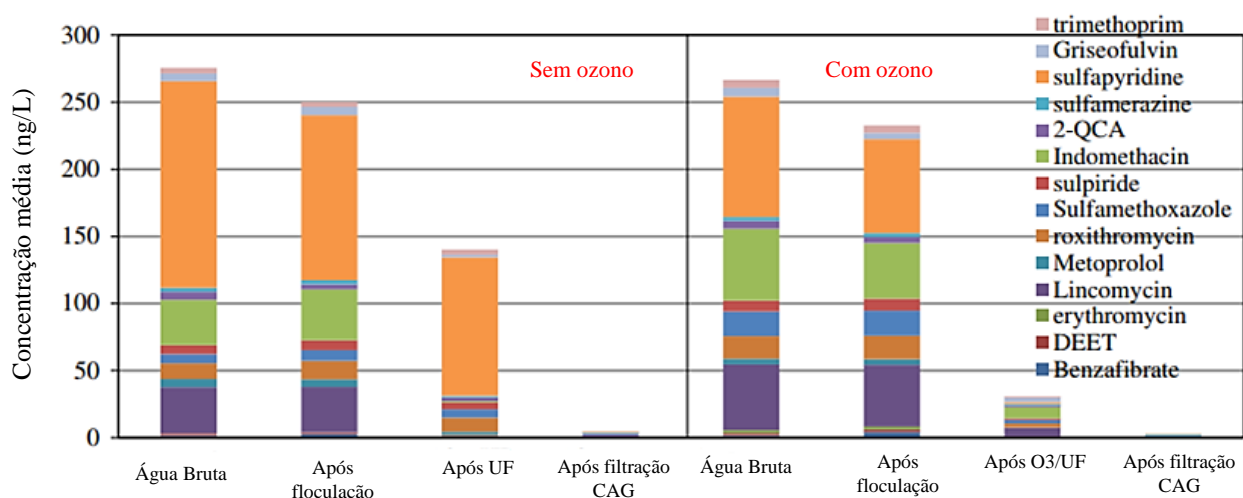


Figura 2.38: Variação da concentração de PPCP durante os processos de tratamento (com e sem ozono) (Fan *et al.*, 2014)

A quantidade de sulfapiridina, indometacina e lincomicina na água bruta representou mais de 70 % do total de PPCP.

A etapa de coagulação/floculação apresentou baixa eficiência de remoção (20 %), para os dois sistemas de tratamento. A ultrafiltração como processo unitário conseguiu reduzir em 50 % o total de PPCP, enquanto a eficiência de remoção associada à combinação O_3 – UF pode eliminar até 86 %.

Quando foi usada ozonização no sistema, cinco PPCP, com concentração total inferior a 3 ng/L foram detetados no efluente de CAG, comparativamente, aos sete PPCP, com concentração total de 5 ng/L detetados, quando não usado ozono no sistema de tratamento.

De uma maneira geral, o sistema apresentado, que combina coagulação/floculação, ozonização, ultrafiltração de membrana cerâmica demonstrou elevada capacidade de remoção de micropoluentes de águas superficiais, mais especificamente 98 % para compostos farmacêuticos e produtos de cuidado pessoal.

ANTIBIÓTICOS SELECIONADOS

No presente capítulo são apresentados três antibióticos de classes diferentes pretendendo-se analisar de forma mais pormenorizada as suas características, efeitos ecotoxicológicos e eficiências de remoção de uma água para consumo humano.

Os antibióticos selecionados são a eritromicina, a ciprofloxacina e o sulfametoxazol. Os critérios de seleção utilizados foram o seu consumo, a sua deteção em águas superficiais, subterrâneas e/ou águas de consumo e o seu potencial efeito ecotoxicológico, para além de serem considerados, por investigadores, como antibióticos de particular preocupação em ambientes hídricos em diversos países, como por exemplo o Reino Unido, Dinamarca, Suécia, França, Espanha e EUA (Johnson *et al.*, 2015).

3.1 Eritromicina

A eritromicina faz parte da classe de antibióticos denominada macrólidos, que tem sido amplamente consumida na Europa e particularmente em Portugal. A sua análise justifica-se pelo seu consumo e por ser um dos compostos mais frequentemente detetados em águas superficiais e nas águas de consumo.

Este antibiótico tem sido utilizado desde a década de 1950 e faz parte do grupo de antibióticos que se acredita atuar sobre a subunidade 50S do ribossoma resultando no bloqueio da transpeptidação ou translocação, na inibição da síntese proteica bacteriana e, portanto, inibição do crescimento celular (Martindale, 1993). A tabela 3.1 expõe algumas características da eritromicina.

Tabela 3.1: Características da eritromicina

Eritromicina	
Classe terapêutica	Macrólidos
Número CAS	114-07-8
Peso molecular	733,93 g/mol
$\log k_{ow}$	3,1
pKa	5,8
Meia - vida	30 dias
Carga elétrica	Iônico negativo
Estabilidade na água	Prolongada
Excreção inalterada	25%
Solubilidade na água	1,4 mg/L
Frequência na origem de água de consumo	40 %

A eritromicina (figura 3.1) é naturalmente produzida pela bactéria *Streptomyces erythreus* e apresenta uma ação principalmente bacteriostática contra uma ampla gama de bactérias gram positivas. Pode ser administrado via oral, via intravenosa ou topicamente e é usada em condições como a difteria, a tosse convulsa, a doença do legionário e outras infecções do trato respiratório, sendo usada, como alternativa à penicilina, em pacientes alérgicos à mesma e como alternativa à tetraciclina em infecções por clamídia (Martindale, 1993).

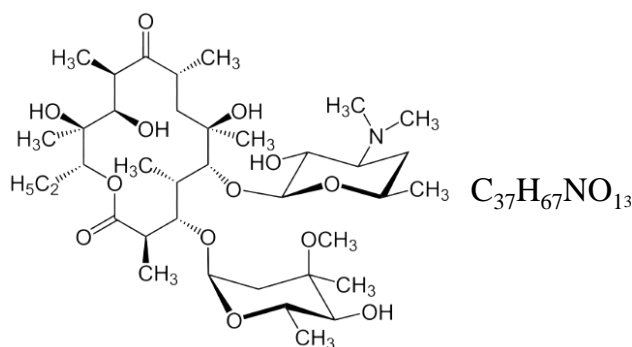


Figura 3.1: Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico eritromicina (Grujic *et al.*, 2009)

A eliminação da eritromicina, pelo organismo, ocorre através do fígado e das fezes a uma taxa de 50 - 67% e em menor quantidade pela urina (5 - 10%), 25% do total sob a forma inalterada (McArdell *et al.*, 2003).

Na estação de tratamentos de águas residuais, a remoção da eritromicina consegue obter taxas muito variáveis dependendo do sistema de tratamentos utilizados. Segundo Monteiro & Boxall (2010) este antibiótico pode ser eliminado por adsorção nas lamas

ativadas até 25%. A sua elevada persistência e estabilidade nos meios hídricos pode ser avaliada na tabela 3.2.

Tabela 3.2: Concentrações de eritromicina detetadas em águas superficiais, subterrâneas e de abastecimento

Tipo de água	País	Concentração (ng/L)	Referência
Águas de superfície	Coreia do Sul	137 (média)	Kim <i>et al.</i> 2009
	Sérvia	40 - 60	Grujic <i>et al.</i> 2009
	Alemanha	1 700	Hirsch <i>et al.</i> 1999
	China	460 (média)	Xu <i>et al.</i> 2007
	Espanha	3 980 (máxima)	Rodriguez-Gil 2010
	USA	100 (média) 1700 (máxima)	Kolpin <i>et al.</i> 2002
Águas subterrâneas	Sérvia	30 - 140	Zuccato <i>et al.</i> 2005
	USA	2 380 (máxima)	Bartelt-Hunt <i>et al.</i> 2011
Águas de abastecimento	Alemanha	20	Monteiro e Boxall, 2010
	Portugal	5 (máxima)	Gaffney <i>et al.</i> 2015
	Canadá	12	Kleywegt <i>et al.</i> 2011
	USA	0,3 (média) 2,6 (máxima)	Bull <i>et al.</i> 2011
		1,5 (média) 13,8 (máxima)	Padhye <i>et al.</i> 2014

A eritromicina é um dos antibióticos mais frequentemente detetados em águas para consumo humano (Monteiro & Boxall, 2010), inclusive a sua presença foi observada num sistema de distribuição em Portugal, com uma concentração máxima de 5 ng/L. Na Alemanha foram detetadas concentrações máximas de 20 ng/L na água de abastecimento.

3.1.1 Efeitos toxicológicos

Os testes ecotoxicológicos desenvolvidos para analisar o efeito das concentrações de eritromicina detetadas em meios hídricos encontram-se na tabela 3.3.

As cianobactérias são, por norma, os organismos mais sensíveis aos antibióticos por serem seres procarióticos. O facto de serem estruturalmente semelhantes às bactérias torna-as mais sensíveis ao modo de ação dos antibióticos. A eritromicina apresenta uma toxicidade às cianobactérias semelhante às algas verdes (Baumann *et al.*, 2015) apesar das cianobactérias serem ligeiramente mais sensíveis ao antibiótico. A exceção acontece para a alga verde *Chlorella vulgaris* que apresenta uma sensibilidade claramente mais baixa.

Num estudo realizado por Liu *et al.* (2011) foi analisado o efeito da eritromicina e de outros dois antibióticos (sulfametoxazol e ciprofloxacina) no processo de fotossíntese da alga *Selenastrum capricornutum*. Os resultados indicaram que os três antibióticos podem inibir significativamente o progresso fisiológico, incluindo transporte de eletrões fotofosforilação e assimilação de carbono. A eritromicina pode induzir efeitos tóxicos agudos a uma concentração de 0,06 mg/L sendo considerada a mais tóxica dos três antibióticos.

No estudo de Gaffney *et al.* (2016), a eritromicina foi o único antibiótico considerado como de elevado risco para o ambiente com um valor de RQ superior a 1 (1,55).

Tabela 3.3: Testes ecotoxicológicos da eritromicina em diversos organismos

Grupo	Espécie	EC ₅₀ (mg/L)	Tempo de exposição	Referência
Cianobactérias	<i>M. aeruginosa</i>	0,023	144 h	Ando <i>et al.</i> 2007
	<i>Anabaena sp.</i>	0,022	72 h	Gonzalez-Pleiter <i>et al.</i> 2013
	<i>A. flos-aquae</i>	0,27	144 h	Ando <i>et al.</i> 2007
Algas verdes	<i>Chlorella vulgaris</i>	33,8	72 h	Eguchi <i>et al.</i> 2004
	<i>P. subcapitata</i>	0,35	72 h	Gonzalez-Pleiter <i>et al.</i> 2013
Proteobactérias	<i>V. fischeri</i>	>100	5, 15 e 30 min	Hernando <i>et al.</i> 2007
Crustáceo planctónico	<i>Daphnia magna</i>	210,6	-	Johnson <i>et al.</i> 2015
Macrófitas aquáticas	<i>Lemna gibba</i>	>1	7 dias	Brain <i>et al.</i> 2004

3.1.2 Processos de remoção

A presença frequente de eritromicina em águas superficiais e especialmente em águas de abastecimento levou ao estudo, por parte de diversos autores, de processos de remoção da água adequados a este antibiótico. A tabela 3.4 apresenta as eficiências de remoção da eritromicina através dos diferentes processos de tratamento.

A eritromicina apresenta as mais baixas eficiências de remoção quando utilizados os processos de coagulação/sedimentação e desinfecção por radiação UV. Apesar da adição de H_2O_2 à radiação UV incrementar as taxas de remoção, é perceptível que este antibiótico tem pouca capacidade de absorver a radiação ultravioleta. O uso de carvão ativado em pó também não demonstra grandes reduções quando aplicadas baixas concentrações (5 mg/L), no entanto dosagens de 24 mg/L de CAP permitem remoção da eritromicina em 83,32 %.

As tecnologias de tratamento que apresentaram maior eficiência de remoção da eritromicina foram o cloro livre (100%) que removeu o antibiótico completamente e o ozono (91-99 %). A conjugação do ozono com o peróxido de hidrogénio, constituiu um processo avançado de oxidação (PAO) bastante eficiente (98%).

Tabela 3.4: Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico eritromicina

Processo	Especificações	Taxa de remoção	Referência
Coagulação/ Floculação/ Sedimentação	2 mg/L (cloreto férrico)	<5 %	Liu <i>et al.</i> 2016
Ozonização	1 mg/L	99 %	Liu <i>et al.</i> 2016
	3 mg/L	91 %	Liu <i>et al.</i> 2013
Cloragem	$Cl_2 = 3,5$ mg/L	100 %	Snyder <i>et al.</i> 2008
	$NH_2Cl = 3$ mg/L 24h	20 %	Snyder <i>et al.</i> 2007
Radiação UV	40 mJ/cm ²	<5 %	Snyder <i>et al.</i> 2008
PAO	H_2O_2/O_3 $O_3 = 3$ mg/L	98 %	Liu <i>et al.</i> 2013
	UV/ H_2O_2 UV = 372 mJ/cm ² $H_2O_2 = 5$ mg/L	50 - 80 %	Snyder <i>et al.</i> 2007
CAP	24 mg/L	83,32 %	Liu <i>et al.</i> 2013
	5 mg/L	20 - 50 %	Snyder <i>et al.</i> 2007
Membranas	UF	60 %	Yoon <i>et al.</i> 2007
	NF	55 % 78 %	Yoon <i>et al.</i> 2007 Snyder <i>et al.</i> 2007

3.2 Ciprofloxacin

A seleção da ciprofloxacin como um dos antibióticos para análise e remoção no sistema de tratamento de água de abastecimento provém do seu elevado consumo não só em Portugal, constituindo um dos três antibióticos mais consumidos, segundo o Infarmed (2014), como em todo o mundo. Além disso, tem sido amplamente referido em testes ecotoxicológicos na atual bibliografia.

A ciprofloxacin é um antibiótico sintético pertencente à classe das fluoroquinolonas (FQ), a qual detém um elevado interesse uma vez que constituem antibacterianos de amplo espectro. O antibiótico selecionado é administrado principalmente em humanos e com um uso crescente em hospitais, no domicílio e em medicina veterinária (Grave *et al.* 2012).

A estrutura química apresentada na figura 3.2 representa a ciprofloxacin. Os seus grupos funcionais têm funções genéricas idênticas a todas as fluoroquinolonas, que em conjunto proporcionam as propriedades antibacterianas aos compostos. Esta classe de

antibióticos é ativa contra diversas espécies bacterianas patogénicas por inibição seletiva da síntese de ADN bacteriano (Frade *et al.* 2014). A tabela 3.5 apresenta algumas características da ciprofloxacina.

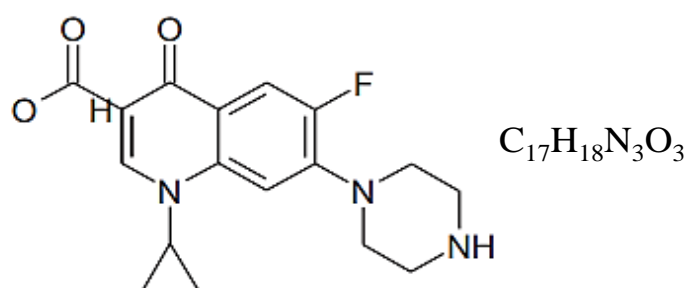


Figura 3.2: Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico ciprofloxacina (Ebert *et al.* 2011)

Tabela 3.5: Características da ciprofloxacina

Ciprofloxacina	
Classe Terapêutica	Fluoroquinolonas
Número CAS	85721-33-1
Peso molecular	331,34 g/mol
$\log K_{ow}$	0,28
pKa	3,64 - 8,95
Meia vida	90 min
Estabilidade na água	Moderada
Excreção inalterada	40 - 50 %
Solubilidade na água	30 000 mg/L
Diâmetro na água (nm)	0,826

A ciprofloxacina apresenta elevada solubilidade na água e o seu espectro de atividade inclui a maioria das bactérias patogénicas responsáveis por infeções respiratórias, urinárias, gastrointestinais e abdominais, incluindo as Gram-negativas (*E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*) e Gram-positivas (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus pyogenes* sensível à meticilina).

Em Portugal, foram vendidas, em 2014, cerca de 466 mil embalagens de ciprofloxacina (Infarmed, 2014) e na Europa refletiu-se num consumo médio per capita de 0.652 mg/cap/dia (Johnson *et al.* 2015). Zhang *et al.* (2015) relataram que a proporção de uso de FQ (17%) entre todos os antibióticos, na China, era superior ao dos EUA (<8% para humanos, <10% para animais) e de outros países, de modo que a poluição por FQ, em ambientes aquáticos, neste país, pode ser ainda mais grave.

Após a administração, a ciprofloxacina é eliminada do organismo, principalmente através da excreção de urina e, em menor grau, por uma excreção fecal. Cerca de 40-50% de uma dose oral é excretada inalterada na urina e cerca de 15% como metabolitos, enquanto a excreção fecal ao longo de 5 dias representa 20-35% de uma dose oral (Vance-Bryan *et al.*, 2009).

Apesar de ser um dos antibióticos mais consumidos em todo o mundo, segundo Karthikeyan *et al.* (2006) a ciprofloxacina é removida em ETAR com taxas de remoção de 22,2% a 100%, dependendo dos sistemas de tratamento instalados. De uma forma geral, considera-se que as ETAR não removem de forma consistente ou eficiente a CIP dos afluentes (Frade *et al.* 2014) e, portanto, é continuamente introduzido nos meios hídricos no mundo inteiro (tabela 3.6).

Tabela 3.6: Concentrações de ciprofloxacina detetadas em águas superficiais, águas subterrâneas e águas de abastecimento

Tipo de água	País	Concentração (ng/L)	Referência
Águas de superfície	Itália	20 (média) 17,4 - 588,5	Calamari <i>et al.</i> 2003 Castiglioni <i>et al.</i> 2008
	USA	20 (média)	Kolpin <i>et al.</i> 2002
	Austrália	1 300 (máxima)	Watkinson <i>et al.</i> 2009
	França	370 - 9 660	Feitosa-Fetizzola <i>et al.</i> 2009
	China	66 890	Xu <i>et al.</i> 2015 Wei <i>et al.</i> 2012
	Índia	2 500 000 - 6 500 000	Fick <i>et al.</i> 2009
	Portugal	79,6 - 119,2	Angelina Pena 2007
	Espanha	28,02	Serna <i>et al.</i> 2010
Águas subterrâneas	USA	45 000 (perto de descarga de ETAR)	Karnjanapiboonwong <i>et al.</i> 2011
	Índia	44 - 14 000	Fick <i>et al.</i> 2009
Águas de abastecimento	Espanha	13,28	Serna <i>et al.</i> 2010
	USA	<20	Stalckelberg <i>et al.</i> 2004

A ciprofloxacina tem sido detetada em diversos ambientes aquáticos, incluindo na água do sistema de distribuição da Espanha, com valores médios de 13,28 ng/L. Este antibiótico apresentou uma concentração de 9 660 ng/L nas águas superficiais do rio Arco no sul de França e foi detetada em concentrações médias mais elevadas na China onde, por sua vez, foi detetado um dos seus valores mais elevados (5 930 ng/L) (Wei *et al.*, 2012).

Fick *et al.* (2009) investigaram águas superficiais, subterrâneas e água potável possivelmente poluídas por antibióticos e outros produtos farmacêuticos numa região onde a indústria de medicamentos foi desenvolvida e encontrou níveis elevados de antibióticos, incluindo ciprofloxacina, em amostras de águas de superfície e de águas subterrâneas, especialmente usadas para posterior consumo humano.

3.2.1 Efeitos toxicológicos

Os testes ecotoxicológicos desenvolvidos para analisar os efeitos tóxicos das concentrações de ciprofloxacina são apresentados na tabela 3.7.

Tabela 3.7: Testes ecotoxicológicos da ciprofloxacina em diversos organismos

Grupo	Espécie	EC ₅₀ (mg/L)	Tempo de exposição	Referência
Cianobactérias	<i>M. aeruginosa</i>	0,017	5 dias	Robinson <i>et al.</i> 2005
	<i>Anabaena flos-aquae</i>	0,0102	72 h	Ebert <i>et al.</i> 2011
Algas verdes	<i>D. subspicatus</i>	>8	72 h	Ebert <i>et al.</i> 2011
	<i>P. subcapitata</i>	4,83	96 h	Martins <i>et al.</i> 2012
	<i>Chlorella vulgaris</i>	20,6	96 h	Nie <i>et al.</i> 2008
Proteobactérias	<i>V. fischeri</i>	11,5	30 min	Martins <i>et al.</i> 2012
		>5,9	30 min	Hernando <i>et al.</i> 2007
	<i>P. putida</i>	0,080	-	Kummerer <i>et al.</i> 2000
Macrófitas				
	<i>Lemna minor</i>	0,0625	7 dias	Ebert <i>et al.</i> 2011
		3,75	7 dias	Martins <i>et al.</i> 2012
	<i>Lemna gibba</i>	0,697	7 dias	Brain <i>et al.</i> 2004
Crustáceos planctónico				
	<i>Daphnia magna</i>	87,14	48 h	Dalla Bona <i>et al.</i> 2014
		10	-	Robinson <i>et al.</i> 2005
	<i>Daphnia curvirostris</i>	14,45	48 h	Dalla Bona <i>et al.</i> 2014
Peixes				
	<i>G. holbrooki</i>	>60	96 h	Martins <i>et al.</i> 2012
	<i>Brachydanio rerio</i>	NOEC >100	72 h	Halling-Sorensen <i>et al.</i> 2000

A ciprofloxacina apresenta valores de EC₅₀ para as cianobactérias muito inferiores aos das algas verdes, o que induz uma grande sensibilidade nestes organismos. Este é, entre todos os antibióticos selecionados, o que expõe valores toxicológicos mais baixos e portanto, o que incita maior toxicidade às cianobactérias.

Organismos de maior dimensão, como os crustáceos e os peixes, demonstraram os valores de EC₅₀ mais elevados dos testes ecotoxicológicos e por isso, são os que apresentam menor sensibilidade à exposição da ciprofloxacina.

De uma maneira geral, todos os valores detetados em águas superficiais estão abaixo dos valores aqui demonstrados, excetuando o caso da Índia que, nas concentrações detetadas (2 500 – 6 500 µg/L), podem provocar toxicidade em cianobactérias, algas verdes, proteobactérias e macrófitas.

3.2.2 Processos de remoção

A ciprofloxacina não é um composto facilmente biodegradável. Al-Ahmad *et al.* (1999) constatou 0 % de degradação do antibiótico na realização de um teste em frasco fechado após 40 dias. Os processos de tratamento e eficiências de remoção da ciprofloxacina apresentam-se na tabela 3.8.

Tabela 3.8: Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico ciprofloxacina

Processo	Especificações	Taxa de remoção	Referência
Coagulação/ Floculação/ Sedimentação	escala real	17 - 35 %	Xu <i>et al.</i> , 2015
Ozonização	escala real	37 %	Xu <i>et al.</i> , 2015
	1,0 - 1,3 mg/L	16 %	Vieno <i>et al.</i> , 2007
	0,11 - 0,79 mg/L	63 - 82 %	Boucherie <i>et al.</i> , 2010
Cloragem	Cl ₂ (escala real)	55 - 75 %	Xu <i>et al.</i> , 2015
Radiação UV	40 mJ/cm ²	48 %	Pereira <i>et al.</i> , 2007
PAO	H ₂ O ₂ /O ₃	95 %	De Witte <i>et al.</i> , 2009
	UV/H ₂ O ₂ (60 min)	60 %	Bobu <i>et al.</i> , 2013
Carvão ativado	CAP	87 %	Genç & Dogan, 2015
	CAB (escala real)	90 %	Xu <i>et al.</i> , 2015
Membranas	NF 90	98,9 %	Dogan, 2016
		100 %	Dolar <i>et al.</i> , 2012
	OI - LFC1	100 %	Dolar <i>et al.</i> , 2012

No estudo à escala piloto de Vieno *et al.* (2007) foi investigado a eliminação de vários compostos farmacêuticos, encontrados na água do rio Vantaa, na Filândia, através de um sistema de tratamento que contemplava coagulação, floculação, sedimentação, filtração de areia, ozonização, filtração com CAG e desinfecção com radiação UV. O único composto analisado que conseguiu passar por todas estas etapas de tratamento com baixa ou nenhuma remoção foi a ciprofloxacina.

A ciprofloxacina é um dos antibióticos mais hidrofílicos ($\log k_{ow} = 0,28$) e, portanto, esperam-se baixas eficiências de remoção quando implementados processos de adsorção tal como o carvão ativado (Vieno *et al.*, 2007). Alguns estudos, porém, obtiveram elevadas taxas de remoção quando aplicado CAP e CAB.

Contrariamente aos outros antibióticos selecionados, a ciprofloxacina apresenta-se pouco reativa ao ozono, apresentando as mais baixas eficiências (16 – 82 %).

Para além dos estudos que reportaram grandes eficiências de eliminação por carvão

ativado, os processos de tratamento que permitiram maiores taxas de remoção da ciprofloxacina foram os processos avançados de oxidação, nomeadamente o que conjugou H_2O_2 e ozono e os processos de separação por membrana, neste caso nanofiltração e osmose inversa, que removeram completamente o antibiótico.

3.3 Sulfametoxazol

O sulfametoxazol é um antibiótico pertencente à classe das sulfonamidas, usado amplamente em medicina humana e veterinária e que ocorre em diversos sistemas aquáticos por influência de atividades antropogénicas. A sua escolha para análise deve-se à sua vasta e generalizada deteção, tanto em águas superficiais, águas subterrâneas e águas de abastecimento, bem como na preocupação devida aos potenciais efeitos ecotoxicológicos.

O sulfametoxazol (SMX) é um composto polar, sensível à radiação ultravioleta e um dos mais frequentemente prescritos no mundo para infeções de bexiga e pulmão, atua contra bactérias aeróbias gram negativas e gram positivas, incluindo *Escherichia coli*, *Streptococcus* e *Staphylococcus aurea*.

Este composto é frequentemente usado como parte de uma combinação sinérgica com o trimetoprim conhecido como cotrimoxazol o qual causa a inibição das etapas de crescimento e reprodução de bactérias. É especialmente utilizado para o tratamento de infeções respiratórias tal como a pneumonia. A tabela 3.9 apresenta algumas das características pertencentes a este antibiótico.

Tabela 3.9: Características do sulfametoxazol

Sulfametoxazol	
Classe terapêutica	Sulfonamidas
Número CAS	723-46-6
Peso molecular	254
Log k_{ow}	0,89
pKa	1,7; 6,56
Meia vida	37,5 dias
Carga elétrica	Iónico negativo
Estabilidade na água	Moderada
Excreção inalterada	15 %
Solubilidade na água	3842 mg/L (25°C)
Diâmetro na água (nm)	0,734
Frequência nas origens de água de consumo	85%

Na figura 3.3 está representada a estrutura química e a fórmula molecular do sulfametoxazol pertencente à classe das sulfonamidas, capazes de inibir as fases sequenciais na síntese de ácido tetraidrofólico, essencial à síntese bacteriana da purina e, por conseguinte, do ADN (Johnson *et al.*, 2015).

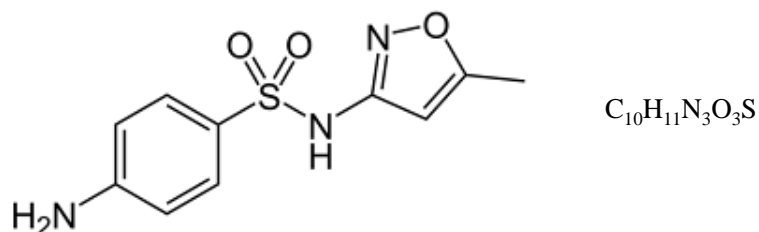


Figura 3.3: Estrutura química e fórmula molecular do antibiótico sulfametoxazol (Grujic *et al.*, 2009)

Em Portugal, o Infarmed (2014) reporta que em 2014 foram vendidas 26 574 embalagens do medicamento composto pelos antibióticos sulfametoxazol e trimetoprim. Em Espanha foi relatado um consumo de 0.633 mg/cap/dia, no ano de 2010, e uma média de 0.820 mg/cap/dia em toda a Europa (Johnson *et al.* 2015). Segundo Baran *et al.* (2012) é possível que, em cada ano, mais de 20 000 mg de sulfonamidas com propriedades bacteriostáticas sejam introduzidas na biosfera.

Após administração, as sulfonamidas não são completamente metabolizadas pelo organismo, sendo excretadas através da urina (parcialmente) gerando como principais subprodutos os produtos derivados de compostos N-acetilados. Estes metabolitos, são biologicamente inativos, embora alguns estudos mostrem que estes podem ser transformados em compostos biologicamente ativos (Göbel *et al.*, 2005). Após metabolização pelo organismo, cerca de 15 % do sulfametoxazol administrado é eliminado na sua forma inalterada (Hirsch *et al.* 1999).

De acordo com os dados publicados em 2010 no estudo de Gros *et al.* (2010), o sulfametoxazol foi removido de estações de tratamento de águas residuais selecionadas (STPs), em Espanha, na faixa de 30 - 92 %. Segundo Baran *et al.* (2012), alguns autores consideram que a alta eficiência de degradação das sulfonamidas nas águas residuais é obtida usando vários processos avançados de oxidação (PAO), como o uso de O₃, Cl₂, ClO₂, reação de Fenton ou processos fotocatalíticos. Infelizmente, a aplicação destes métodos é dispendiosa, pelo que não deverá ser tão frequentemente utilizado em ETAR. A tabela 3.10 apresenta dados relativos a concentrações de sulfametoxazol relatadas em diferentes tipos de águas.

Tabela 3.10: Concentrações de sulfametoxazol detetadas em águas superficiais, águas subterrâneas e águas de abastecimento

Tipo de água	País	Concentração (ng/L)	Referência
Águas de superfície	USA	150 máxima	Kolpin <i>et al.</i> , 2002
		768 (máxima)	Glassmeyer <i>et al.</i> , 2005
	Portugal	9,14 - 53,3 (estuário)	Madureira <i>et al.</i> , 2010
	Alemanha	480 (máxima)	Hirsch <i>et al.</i> , 1999
	Austrália	8 (média) 2000 (máxima)	Watkinson <i>et al.</i> , 2009
	Espanha	79	Gros <i>et al.</i> , 2012
Águas subterrâneas	USA	170	Fram, 2011
		1100	Barnes <i>et al.</i> , 2008
	Alemanha	410	Kemper, 2008
Águas de abastecimento	USA Nebraska	6	Monteiro & Boxall, 2010
	Portugal	1,3	Gaffney <i>et al.</i> , 2015
	China	8,0 - 21,3	Leung <i>et al.</i> , 2013
	Holanda	1,8	Houtman <i>et al.</i> , 2014
	Espanha	0,5	Gros <i>et al.</i> , 2012
	França	0,8	Bull <i>et al.</i> , 2011

Os dados apresentados na tabela anterior demonstram que este antibiótico tem sido amplamente detetado em meios hídricos. Snyder *et al.* (2007) refere que o sulfametoxazol é detetado na água bruta de uma ETA com uma frequência de cerca de 85 %.

Loos *et al.* (2009) detetou um valor médio de 76 ng/L de sulfametoxazol nos rios europeus e em Portugal, no estuário de um rio, foi encontrado numa faixa de 9.14 – 53,3 ng/L. Os valores mais elevados foram detetados na água superficial de um rio no Quênia (13 765 ng/L) (Ngumba *et al.* 2016) e no que diz respeito à água subterrânea foi detetada uma concentração de 1 100 ng/L nos EUA.

Na água de abastecimento foram detetadas concentrações máximas de sulfametoxazol no Nebraska (6 ng/L) e na China (8,0 – 21,3 ng/L).

3.3.1 Efeitos toxicológicos

Os testes ecotoxicológicos desenvolvidos para analisar os efeitos tóxicos das concentrações de sulfametoxazol são apresentados na tabela 3.11.

Tabela 3.11: Testes ecotoxicológicos do sulfametoxazol em diversos organismos

Grupo	Espécie	EC ₅₀ (mg/L)	Tempo de exposição	Referência
Cianobactérias	<i>M. aeruginosa</i>	0,55	24 h	Grinten <i>et al.</i> , 2010
	<i>S. leopoliensis</i>	0,03	96 h	Mutiyar & Mittal, 2014
Algas verdes	<i>S. vacuolatus</i>	1,54	24 h	Bialk - Bielinska <i>et al.</i> , 2011
	<i>P. subcapitata</i>	0,52	72 h	Isidori <i>et al.</i> , 2005
		>9	24 h	Grinten <i>et al.</i> , 2010
Proteobactérias	<i>V. fischeri</i>	74,2	5 min	Kim & Aga, 2007
		78,1	15 min	
		>1,5	30 min	Grinten <i>et al.</i> , 2010
	<i>P. putida</i>	23,3	30 min	Isidori <i>et al.</i> , 2005
Macrófitas aquáticas	<i>P. putida</i>	477	16 h	Tobajas <i>et al.</i> , 2016
	<i>Lemna gibba</i>	0,081	7 dias	Brain <i>et al.</i> , 2004
	<i>Lemna minor</i>	0,21	3 dias	Bialk - Bielinska <i>et al.</i> , 2011
Crustáceos	<i>C. dubia</i>	15,51	48 h	Isidori <i>et al.</i> , 2005
	<i>Daphnia magna</i>	0,21	7 dias (LC50)	
		123,1	48 h	Park & Choi, 2008
Peixes	<i>Oryzias latipes</i>	>750	48 h	García-Galán <i>et al.</i> , 2009

De acordo com os dados da tabela anterior, as cianobactérias e as algas verdes, utilizadas no estudo, apresentam uma maior sensibilidade ao sulfametoxazol do que organismos maiores como os peixes (*Oryzias latipes*) ou os crustáceos (*Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna*).

Yang, L. H *et al.* (2008) investigaram a toxicidade de, entre outros antibióticos, duas sulfonamidas (SA) (sulfametazina e sulfametoxazol) contra a alga verde de água doce *P. subcapitata*. Uma vez que, no ambiente aquático, os antibióticos não são detetados como compostos isolados, mas sim, juntamente com outros semelhantes, os autores estudaram a inibição do crescimento de algas na presença de antibióticos individuais, misturas de 12 antibióticos (incluindo as duas sulfonamidas) e diferentes misturas binárias. As concentrações de teste foram 0,001-10 µg/L. Individualmente, as duas SA, foram as menos tóxicas de todos os antibióticos estudados (macrólidos, tetraciclinas, fluoroquinolonas, triclosan e trimetoprim).

No estudo de Gaffney *et al.* (2016), o sulfametoxazol foi o segundo antibiótico com maior potencial risco ambiental, sendo classificado com risco médio (RQ = 0,81).

Apesar disso, tal como no caso da eritromicina e da ciprofloxacina, também as concentrações (EC₅₀) verificadas nos testes ecotoxicológicos para o sulfametoxazol foram muito

mais elevadas do que aquelas relatadas ou expectadas nas águas superficiais.

3.3.2 Processos de remoção

No mesmo teste realizado por Al-Ahmad *et al.* (1999) foi constatado 0 % de degradação do sulfametoxazol na realização de um teste de frasco fechado após 40 dias. Na tabela 3.12 são apresentados os diferentes processos de tratamento do sulfametoxazol e respectivas eficiências de remoção.

Tabela 3.12: Processos de tratamento e respectivas eficiências de remoção do antibiótico sulfametoxazol

Processo	Especificações	Taxa de remoção	Referência
Coagulação/ Floculação/ Sedimentação	(escala real)	<5 %	Liu <i>et al.</i> , 2016
Ozonização	1 mg/L (escala real)	76 %	Liu <i>et al.</i> , 2016
	2 mg/L	93 %	Liu <i>et al.</i> , 2013a
	Doses típicas ETA (2 min)	>95 %	Snyder <i>et al.</i> , 2007
Cloragem	ClO ₂ = 0,1 mg/L	95 %	Huber <i>et al.</i> , 2005
	Cl ₂ = 1 mg/L	88 %	Chamberlain & Adams, 2006
	NH ₂ Cl = 3 mg/L 24 h	15 % (média sulfonamidas)	Snyder, 2007
Radiação UV	40 mJ/cm ²	50 - 80 %	Snyder, 2010
PAO	UV/H ₂ O ₂	>90 %	Lekkerkerker- Teunissen <i>et al.</i> , 2012
	H ₂ O ₂ (0-10 mg/L)		
	H ₂ O ₂ /O ₃ O ₃ = 2 mg/L; H ₂ O ₂ = 1 mg/L	99 %	Liu <i>et al.</i> , 2013a
CAP	24 mg/L	79,84 %	Liu <i>et al.</i> , 2013a
	5 mg/L	43 %	Snyder <i>et al.</i> , 2007
CAG	CAG	84 %	Snyder <i>et al.</i> , 2007
	CAB (escala real)	100 %	Liu <i>et al.</i> , 2016
Membranas	NF90	96 %	Quintanilla, 2010
	NF200	84 %	Quintanilla, 2010
	NF270	15 %	Dolar <i>et al.</i> , 2012
	OI - LFC1	96 %	Dolar <i>et al.</i> , 2012

Comparativamente a outros antibióticos, o sulfametoxazol apresenta-se bastante sensível à radiação ultravioleta, com eficiências de remoção entre os 50 e os 80 %, para dosagens típicas de ETA. Este é, segundo Snyder *et al.* (2007), um dos compostos farmacêuticos mais recalcitrantes aquando a sua remoção por carvão ativado, apresentando eficiências de remoção de 79,84 %, apenas quando utilizado uma dosagem de 24 mg/L.

Remoções por filtração com CAG alcançaram os 84 %, e quando utilizado carvão ativado biológico (CAB) o antibiótico foi removido completamente. Há que ter em consideração que esta eficiência foi alcançada tendo como anterior processo de tratamento a ozonização. O sulfametoxazol, assim como a eritromicina anteriormente referida, mostram uma grande afinidade com o ozono.

As tecnologias de tratamento que permitiram maiores eficiências de remoção do sulfametoxazol da água foram o ozono, o dióxido de cloro, os processos avançados de oxidação, especialmente quando é conjugado o ozono com o peróxido de hidrogénio.

A filtração por membranas nanofiltração (NF 90) e osmose inversa permitem, igualmente, elevadas taxas de remoção.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A presença de antibióticos em concentrações vestigiais nas origens de água utilizadas para produção de água para consumo tem merecido especial atenção e preocupação da comunidade científica, sendo atualmente denominados de compostos emergentes.

Considerando que os compostos farmacêuticos ingeridos não são totalmente digeridos pelo organismo sendo excretados na sua forma original ou na forma de metabolito através de fezes ou urina e o facto das ETAR apresentarem baixas eficiências nos sistemas de tratamento leva à possibilidade destes compostos poderem estar presentes nas águas superficiais afetando organismos *non-target* e no caso das ETA não possuírem capacidade de tratamento de remoção, a hipótese de serem detetados na água para consumo, comprometendo a saúde pública.

Os antibióticos têm sido amplamente detetados nos diversos meios hídricos. Naturalmente são encontrados em maior concentração nas águas residuais, no entanto a sua deteção em águas subterrâneas e/ou águas superficiais acontece com alguma frequência. Após tratamento em ETA, tem-se verificado a presença de muitos destes compostos na água para consumo, nomeadamente o trimetoprim, a eritromicina e o sulfametoxazol, o qual é detetado em 85 % das amostras de água bruta utilizadas no tratamento de água para consumo.

Sendo assim, a maioria dos organismos aquáticos (organismos *non-target*) encontra-se continuamente exposta a uma multiplicidade de compostos farmacêuticos levantando-se a questão dos efeitos indesejáveis a longo prazo advindos da toxicidade e bioacumulação. Para avaliar o risco destas substâncias indesejadas foram desenvolvidos testes ecotoxicológicos, os quais podem ser aplicados em diversos organismos.

Conclui-se que, até agora, a maioria dos testes sobre antibióticos se têm focado essencialmente nos compostos na sua singularidade, no entanto é importante referir que os

antibióticos nunca aparecem individualmente, mas sim como misturas complexas com diferentes grupos de compostos farmacêuticos.

Alguns estudos demonstraram que certas combinações específicas de antibióticos podem representar um potencial risco ecológico para os ecossistemas hídricos em concentrações representativas no ambiente (González-Pleiter *et al.*, 2013; Magdaleno *et al.*, 2015). Segundo, González-Pleiter *et al.* (2013) a combinação dos antibióticos eritromicina e tetraciclina mostrou forte sinergia demonstrando que poderá ser uma combinação bastante tóxica no ambiente, mesmo quando ambos estão presentes em concentrações muito baixas.

A avaliação dos riscos toxicológicos dos compostos farmacêuticos apresenta diversas limitações: além dos escassos estudos que abordam as misturas de antibióticos, mais investigação seria necessária na abordagem dos seus metabolitos de modo a proporcionar um conhecimento mais abrangente. Para além disso, não existem dados ecotoxicológicos disponíveis para todos os antibióticos, sendo que alguns têm recebido mais atenção do que os outros (Väitalo *et al.*, 2017). Outra das grandes limitações é a falta de estudos ecotoxicológicos crônicos resultantes da exposição prolongada a baixas concentrações, o qual tornaria o cenário mais próximo da realidade.

Assim, torna-se importante o desenvolvimento de estudos que permitam aumentar o conhecimento do destino destes compostos, do seu comportamento e dos potenciais efeitos. No entanto, e de uma maneira geral, as concentrações de antibióticos em que foram observados efeitos toxicológicos eram de ordem de grandeza superior às encontradas no meio hídrico.

Relativamente às consequências do consumo inadvertido de antibióticos através de água potável ou de outra fonte, como por exemplo, o consumo de peixe, constata-se que os impactos adversos sobre a saúde humana são muito improváveis quando se referem as concentrações vestigiais de antibióticos que podem, potencialmente, ser encontrados na água tratada. Segundo WHO (2012) os dados disponíveis reportam que, para as substâncias que foram detetadas, as concentrações são mais de 1000 vezes menores do que a menor dosagem ativa usada clinicamente. Mais uma vez são escassos os estudos sobre os efeitos da exposição a compostos farmacêuticos a longo prazo e a baixas concentrações, incluindo a exposição de subpopulações sensíveis, como mulheres grávidas e pacientes com doenças e tratamentos médicos específicos.

No entanto, um dos assuntos mais alarmantes relativamente a este grupo de compostos, nomeadamente no que à saúde diz respeito, é a resistência bacteriana aos antibióticos.

Apesar da crescente preocupação, este fenómeno não tem sido totalmente explorado em cenários ambientais, muito possivelmente devido às baixas concentrações em que são detetadas. A informação disponível até à data sugere que a entrada de bactérias resistentes no meio ambiente a partir de diferentes fontes parece ser a principal fonte de resistência no meio ambiente. Porém, alguns estudos (Chow *et al.*, 2015; Gullberg *et*

al., 2011) revelaram que concentrações sub inibitórias, semelhantes às encontradas em recursos hídricos, poderão promover resistência bacteriana aos antibióticos.

Além desta preocupação, supõe-se que os processos de tratamento de água de consumo (ETA) possam também estar relacionados com alterações na comunidade de bactérias resistentes aos antibióticos, sendo a filtração por CAB e a desinfecção por cloraminas, os mais determinantes (Chow *et al.*, 2015).

Apesar das baixas evidências de que os antibióticos detetados nas águas para consumo possam provocar efetivamente algum dano na saúde humana, a sua frequente detecção levanta a possibilidade dos sistemas de tratamento das ETA, normalmente usados, não serem os mais indicados na remoção de compostos farmacêuticos como os antibióticos. Como tal, muitos são os estudos que contemplam informação sobre as remoções destes compostos das águas.

Os sistemas de tratamento convencionais que englobem coagulação, floculação, sedimentação e filtração de areia são ineficazes na remoção de compostos farmacêuticos (< 30 %), em geral, e em particular na remoção da maioria dos antibióticos (< 10 %).

A radiação ultravioleta também parece ser um processo pouco eficaz na remoção de antibióticos de águas para consumo, nas doses típicas de desinfecção (5 – 30 mJ/cm²). O sulfametoxazol foi o antibiótico que obteve as maiores taxas de remoção (50 – 80 %), porém com uma dosagem de 40 mJ/cm².

O uso de CAP e CAG permite alcançar elevadas eficiências de remoção de compostos farmacêuticos, especialmente compostos hidrofóbicos. O sulfametoxazol e a ciprofloxacina são dois antibióticos que apresentam mais resistência à remoção por carvão ativado.

A utilização de ozono demonstrou ser dos oxidantes com maior eficiência na remoção de antibióticos. A informação bibliográfica disponível permitiu concluir que o uso de processos avançados de oxidação (PAO) incrementam estas eficiências, especialmente se incluir ozono.

Segundo Dolar *et al.* (2012) os processos de separação por membranas, nomeadamente a osmose inversa e a nanofiltração com um *cut-off* menor, permitem elevadas eficiências de remoção da maioria dos antibióticos.

A tabela 4.1 apresenta uma compilação das eficiências de remoção mais elevadas dos antibióticos selecionados: Eritromicina, Ciprofloxacina e Sulfametoxazol. De uma maneira geral os processos avançados de oxidação, os processos de separação por membranas e o carvão ativado são os mais eficientes na sua remoção.

Tabela 4.1: Eficiências de remoção mais elevadas dos antibióticos selecionados

Antibiótico	Tratamento	Eficiência
Eritromicina	Ozono	91 - 99 %
	PAO (H_2O_2/O_3)	98 %
	Cl_2	100 %
	CAP (24 mg/L)	20 - 83 %
Ciprofloxacina	PAO (H_2O_2/O_3)	95 %
	CAP	< 87 %
	NF	100 %
	OI	100 %
Sulfametoxazol	Ozono	95 %
	CAP	43 - 80 %
	PAO (H_2O_2/O_3)	99 %
	NF	96 %
	OI	96 %

Nas figuras 4.1 e 4.2 são sugeridas linhas de tratamento que permitem a maximização da remoção dos antibióticos analisados de águas para consumo.

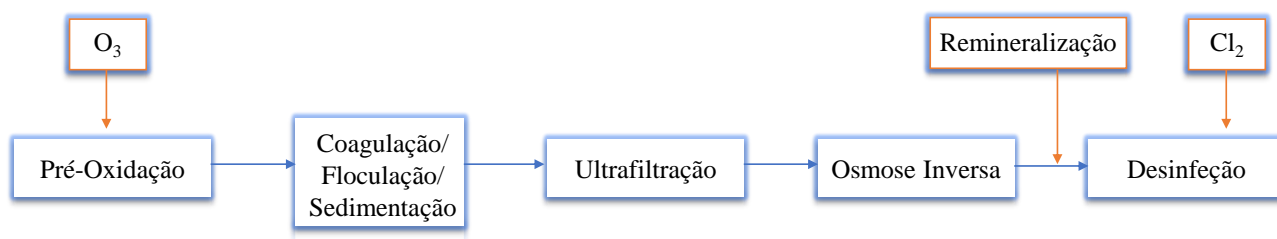


Figura 4.1: Proposta de implementação de um sistema de tratamento de água

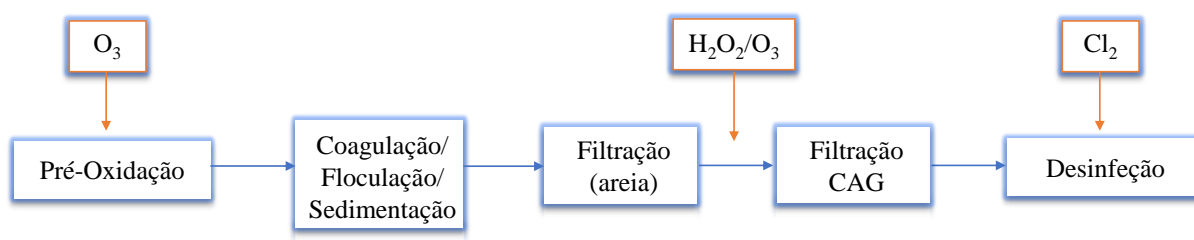


Figura 4.2: Proposta de implementação/reabilitação de um sistema de tratamento de água

Os sistemas propostos contemplam processos de tratamento que permitem as maiores eficiências de remoção. Em ambos é sugerida uma pré-ozonização, o qual possui um poder desinfetante elevado, permite o controlo de odor, cor e sabor e melhora a eficiência da coagulação e floculação.

Na primeira proposta é sugerido o sistema que terá a maior eficiência de remoção global, uma vez que contempla dois processos de separação por membranas: ultrafiltração

e osmose inversa. Como verificado, a ultrafiltração por si só não oferece resultados suficientemente eficientes na remoção de antibióticos. No entanto este processo a montante da osmose inversa funciona como uma alternativa à filtração convencional, assegurando uma maior eficiência e garantindo uma qualidade de água compatível com a unidade de osmose inversa. Após a osmose inversa é necessária uma remineralização da água e posteriormente a desinfecção garantindo residual na água. Neste caso é sugerido o uso de cloro livre, o qual é um método simples, económico e que se revelou muito eficiente.

Na segunda proposta sugere-se um sistema que também poderá ser usado para reabilitação de sistemas existentes e que contemplem: pré-oxidação, coagulação, floculação, sedimentação, filtração (areia) e desinfecção.

Mais uma vez é proposto o ozono como pré-oxidação e o cloro livre como desinfetante final. Após os filtros de areia é adicionado como oxidação intermédia o processo avançado de oxidação que conjuga o peróxido de hidrogénio e o ozono. Este processo obteve elevadas eficiências de remoção (> 95 %) de todos os antibióticos selecionados. Após oxidação intermédia sugerem-se os filtros de carvão ativado por permitir remover os sub-produtos do ozono, assim como os micropoluentes oxidados, não só por adsorção mas também por biodegradação.

PROPOSTAS DE TRABALHO FUTURO

Com o decorrer da elaboração da presente dissertação foi constatada alguma falta de informação que abordasse os efeitos dos antibióticos na água de consumo, nomeadamente os efeitos sobre a saúde humana decorrentes da exposição inadvertida destes compostos na água potável. A maioria dos estudos concluiu que as exposições a longo prazo seriam muito improváveis de afetar a saúde humana, no entanto é necessário que estes estudos sejam, efetivamente realizados a longo prazo e não uma estimativa. É igualmente relevante a abordagem, em estudos científicos, dos diversos antibióticos de diferentes classes que possam ser detetados em meios hídricos.

Neste contexto, e de modo a atingir o objetivo proposto na dissertação, seria importante a realização de mais estudos à escala laboratorial, e se possível à escala real, que estudassem a remoção destes compostos com a máxima eficiência. Seriam realizadas propostas de sistemas de tratamento mais fidedignas se estivessem disponíveis na bibliografia mais estudos que abordassem os antibióticos analisados.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, C., Loftin, K., Asce, M., Wang, Y., Loftin, K., & Meyer, M. (2002). Removal of Antibiotics from Surface and Distilled Water in Conventional Water Treatment Processes. *Journal of Environmental Engineering*, 128:253-260.
- Al-Ahmad, A., Daschner, F. D., & Kümmerer, K. (1999). Biodegradability of cefotiam, ciprofloxacin, meropenem, penicillin G, and sulfamethoxazole and inhibition of waste water bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(2): 158–163.
- Alves, C. (2010), *Tratamento de Águas de Abastecimento*, Pubindústria, 3º edição, Porto. 978-972-8953-46-1
- Andersson, D. I., & Hughes, D. (2012). Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates*, 15(3): 162–172.
- Ando, T., Nagase, H., Eguchi, K., Hirooka, T., Nakamura, T., Miyamoto, K., & Hirata, K. (2007). A novel method using cyanobacteria for ecotoxicity test of veterinary antimicrobial agents. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(4): 601–606.
- Bai, X., Ma, X., Xu, F., Li, J., Zhang, H., & Xiao, X. (2015). The drinking water treatment process as a potential source of affecting the bacterial antibiotic resistance. *Science of the Total Environment*, 533, 24–31.
- Baquero, F., Martínez, J. L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, 19, 260–265.
- Baran, W., Adamek, E., Makowski, A., & Sobczaki, A. (2012). Assessment of sulfonamides occurrence in the biosphere, 19(10), 1153–1171.
- Bartelt-Hunt, S., Snow, D. D., Damon-Powell, T., & Miesbach, D. (2011). Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. *Journal of Contaminant Hydrology*, 123(3–4), 94–103.
- Baumann, M., Weiss, K., Maletzki, D., Schüssler, W., Schudoma, D., Kopf, W., & Kühnen, U. (2015). Aquatic toxicity of the macrolide antibiotic clarithromycin and its metabolites. *Chemosphere*, 120, 192–198.
- Bellona, C., Drewes, J. E., Xu, P., & Amy, G. (2004). Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment - A literature review. *Water Research*, 38(12), 2795–2809.
- Białk-Bielińska, A., Stolte, S., Arning, J., Uebers, U., Bösch, A., Stepnowski, P., & Matzke, M. (2011). Ecotoxicity evaluation of selected sulfonamides. *Chemosphere*, 85(6), 928–33.
- Bobu, M., Yediler, A., Siminiceanu, I., Zhang, F., & Schulte-Hostede, S. (2013). Comparison of different advanced oxidation processes for the degradation of two fluoroquinolone antibiotics in aqueous solutions. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(3), 251–262.

- Boleda, M. R., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2011). Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. *Environmental Pollution*, 159(6), 1584–1591.
- Borges, R. M., Minillo, A., Lemos, E. G. de M., Prado, H. F. A. do, & Tangerino, E. P. (2016). Uso de filtros de carvão ativado granular associado a microrganismos para remoção de fármacos no tratamento de água de abastecimento. *Engenharia Sanitária E Ambiental*, 21(4), 709–720.
- Boucherie, C., Lecarpentier, C., Fauchon, N., Djafer, M. & Heim, V. (2010). “Ozone” and “GAC filtration” synergy for removal of emerging micropollutants in a drinking water treatment plant? *Water Science and Technology: Water Supply*, 10(5), 860–868.
- Bound, J. P., Kitsou, K., & Voulvoulis, N. (2006). Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 301–307.
- Boxall, A. B. A., Rudd, M. A., Brooks, B. W., Caldwell, D. J., Choi, K., Hickmann, S., ... Van Der Kraak, G. (2012). Review Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions? *Environmental Health Perspectives*, 120(9), 1221–1229.
- Brain, R. A., Johnson, D. J., Richards, S. M., Sanderson, H., Sibley, P. K., & Solomon, K. R. (2004). Effects of 25 pharmaceutical compounds to Lemna gibba using a seven-day static-renewal test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(2), 371–382.
- Bull, R. J., Crook, J., Whittaker, M., & Cotruvo, J. A. (2011). Therapeutic dose as the point of departure in assessing potential health hazards from drugs in drinking water and recycled municipal wastewater. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 60(1), 1–19.
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., & Fanelli, R. (2003). A strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. *Environmental Science and Technology*, 37, 1241–1248.
- Carvalho, I. T., & Santos, L. (2016). Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International*, 94, 736–757.
- Castiglioni, S., Pomati, F., Miller, K., Burns, B. P., Zuccato, E., Calamari, D., & Neilan, B. A. (2008). Novel homologs of the multiple resistance regulator marA in antibiotic-contaminated environments. *Water Research*, 42(16), 4271–4280.
- Chamberlain, E., & Adams, C. (2006). Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water Research*, 40(13), 2517–2526.
- Chang, E. E., Wan, J. C., Kim, H., Liang, C. H., Dai, Y. D., & Chiang, P. C. (2015). Adsorption of selected pharmaceutical compounds onto activated carbon in dilute aqueous solutions exemplified by acetaminophen, diclofenac, and sulfamethoxazole. *Scientific World Journal*, 2015(June).
- Chee-Sanford, J. C., Mackie, R. I., Koike, S., Krapac, I. G., Lin, Y., Yannarell, A. C., Maxwell, C. & Aminov, R. I. (2009). Fate and Transport of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes following Land Application of Manure Waste. *Journal of Environment Quality*, 38(3), 1086.

Chen, D., Sivakumar, M., & Ray, A. K. (2000). Heterogeneous Photocatalysis in Environmental Remediation. *Developments in Chemical Engineering and Mineral Processing*, 8((5/6)), 505–550.

Chow, L., Waldron, L., & Gillings, M. R. (2015). Potential impacts of aquatic pollutants: Sub-clinical antibiotic concentrations induce genome changes and promote antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–10.

Dalla Bona, M., Di Leva, V., & De Liguoro, M. (2014). The sensitivity of *Daphnia magna* and *Daphnia curvirostris* to 10 veterinary antibacterials and to some of their binary mixtures. *Chemosphere*, 115(1), 67–74.

De Witte, B., Dewulf, J., Demeestere, K., & Van Langenhove, H. (2009). Ozonation and advanced oxidation by the peroxone process of ciprofloxacin in water. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2–3), 701–708.

Dewil, R., Mantzavinos, D., Poulios, I., & Rodrigo, M. A. (2017). New perspectives for Advanced Oxidation Processes. *Journal of Environmental Management*, 195, 93–99.

Dogan, E. C. (2016). Investigation of ciprofloxacin removal from aqueous solution by nanofiltration process. 18. 291–308.

Dolar, D., Vuković, A., Ašperger, D., & Košutić, K. (2012). Efficiency of RO/NF membranes at the removal of veterinary antibiotics. *Water Science and Technology*, 65(2), 317–323.

Ebert, I., Bachmann, J., Kühnen, U., Küster, A., Kussatz, C., Maletzki, D., & Schlüter, C. (2011). Toxicity of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin and ciprofloxacin to photoautotrophic aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(12), 2786–2792.

Eguchi K, Nagase H, Ozawa M, Endo YS, Goto K, Hirata K, Miyamoto K, Yoshimura H. (2004). Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. *Chemosphere* 57:1733–1738

EPA. (2011), *Water Treatment Manual: Disinfection*. The Environmental Protection Agency, Ireland.

Escher, B. I., & Fenner, K. (2011). Recent advances in environmental risk assessment of transformation products. *Environmental Science & Technology*, 45, 3835–3847.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2014). *Surveillance of antimicrobial consumption in Europe 2012*. Stockholm.

Fajardo, A., & Martínez, J. L. (2008). Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current Opinion in Microbiology*, 11(2), 161–167.

Fan, X., Tao, Y., Wang, L., Zhang, X., Lei, Y., Wang, Z., & Noguchi, H. (2014). Performance of an integrated process combining ozonation with ceramic membrane ultra-filtration for advanced treatment of drinking water. *Desalination*, 335(1), 47–54.

Farkas, A., Butiuc-Keul, A., Ciatarâș, D., Neamțu, C., Crăciunaș, C., Podar, D., & Drăgan-Bularda, M. (2013). Microbiological contamination and resistance genes in biofilms occurring during the drinking water treatment process. *Science of the Total Environment*, 443, 932–938.

- Fatta-Kassinos, D., Meric, S., & Nikolaou, A. (2011). Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: Current state of knowledge and future research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(1), 251–275.
- Feitosa-Felizzola, J., & Chiron, S. (2009). Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology*, 364(1–2), 50–57.
- Fick, J., Söderström, H., Lindberg, R. H., Phan, C., Tysklind, M., & Larsson, D. G. J. (2009). Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(12), 2522–2527.
- Frade, V. M. F., Dias, M., Teixeira, A. C. S. C., & Palma, M. S. A. (2014). Environmental contamination by fluoroquinolones. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(1), 41–54.
- Gaffney, V., Almeida, C. M. M., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M. J., & Cardoso, V. V. (2015). Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Research*, 72, 199–208.
- Gaffney, V., Cardoso, V., Benoliel, M. J., & Almeida, C. (2016). Contaminantes emergentes - fármacos: monitorização, avaliação do risco ambiental e do risco para a saúde humana Emerging contaminants - pharmaceuticals: monitoring, environmental and human health risk assessment. *Águas E Resíduos*, IV, 15–27.
- Gao, L., Shi, Y., Li, W., Liu, J., & Cai, Y. (2012). Occurrence, distribution and bioaccumulation of antibiotics in the Haihe River in China. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(4), 1248.
- García-Galán, M. J., Silvia Díaz-Cruz, M., Barceló, D., & Barceló, D. (2009). Combining chemical analysis and ecotoxicity to determine environmental exposure and to assess risk from sulfonamides. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 28(6), 804–819.
- Genç, N., & Dogan, E. C. (2015). Adsorption kinetics of the antibiotic ciprofloxacin on bentonite, activated carbon, zeolite, and pumice. *Desalination and Water Treatment*, 53(3), 785–793.
- Glassmeyer S. Kolpin D., Cahill J., Zuagg S., Werner S., Meyer M., Kryak D., F. E. (2005). Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharges: Potential for use as indicators of human fecal contamination. *Environmental Science and Technology*, 39(14), 5157–5169.
- Göbel, A., Thomsen, A., McArdell, C. S., Joss, A., & Giger, W. (2005). Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environmental Science and Technology*, 39(11), 3981–3989.
- González-Pleiter, M., Gonzalo, S., Rodea-Palomares, I., Leganés, F., Rosal, R., Boltes, K., Marco, E. & Fernández-Piñas, F. (2013). Toxicity of five antibiotics and their mixtures towards photosynthetic aquatic organisms: Implications for environmental risk assessment. *Water Research*, 47(6), 2050–2064.
- Grave, K., Greko, C., Kvaale, M. K., Torren-Edo, J., Mackay, D., Muller, A. & Moulin, G. (2012). Sales of veterinary antibacterial agents in nine European countries during 2005-09: Trends and patterns. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(12), 3001–3008.

- Grinten, E. V. D., Pikkemaat, M. G., Brandhof, E. J., Stroomberg, G. J., & Kraak, M. H. S. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere*, 80(1), 1–6.
- Gros, M., Petrović, M., Ginebreda, A., & Barceló, D. (2010). Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International*, 36(1), 15–26.
- Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., & Barceló, D. (2012). Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1248, 104–121.
- Grujić, S., Vasiljević, T., & Laušević, M. (2009). Determination of multiple pharmaceutical classes in surface and ground waters by liquid chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(25), 4989–5000.
- Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., & Andersson, D. I. (2011). Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens*, 7(7), 1–9.
- Gunten, U. V. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37(7), 1443–1467.
- Habert, A. C., Borges, C. P. & Nobrega, R. (2006), Processos de Separação por Membranas, E-papers, Rio de Janeiro. Acedido em Novembro, 2017: <https://www.passeidireto.com/arquivo/5896220/habert-processos-de-separacao-por-membranas>
- Halling-Sorensen, B., Lützhøft, H., Andersen, H. R. & Ingerslev, F. (2000). Environmental risk assessment of antibiotics: comparison of mecillinam, trimethoprim and ciprofloxacin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46(90001), 53–58.
- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S. N., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H. C. & Jorgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment - A review. *Chemosphere*, 36(2), 357–393.
- Harris, S. J., Cormican, M., & Cummins, E. (2012). Antimicrobial Residues and Antimicrobial-Resistant Bacteria: Impact on the Microbial Environment and Risk to Human Health-A Review. *Human and Ecological Risk Assessment*, 18(4), 767–809.
- Hernando, M. D., De Vettori, S., Martínez Bueno, M. J., & Fernández-Alba, A. R. (2007). Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere*, 68(4), 724–730.
- Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K., & Kratz, K. L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 225(1–2), 109–118.
- Houtman, C. J., Kroesbergen, J., Lekkerkerker-Teunissen, K., & van der Hoek, J. P. (2014). Human health risk assessment of the mixture of pharmaceuticals in Dutch drinking water and its sources based on frequent monitoring data. *Science of the Total Environment*, 496, 54–62.

Huang, J. J., Hu, H. Y., Wu, Y. H., Wei, B., & Lu, Y. (2013). Effect of chlorination and ultraviolet disinfection on tetA-mediated tetracycline resistance of *Escherichia coli*. *Chemosphere*, 90(8), 2247–2253.

Huber, M. M., Korhonen, S., Ternes, T. A., & Von Gunten, U. (2005). Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Research*, 39(15), 3607–3617.

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Research*, 45(3), 1432–1442.

Ikehata, K., Jodeiri Naghashkar, N., & Gamal El-Din, M. (2006). Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone: Science and Engineering*, 28(6), 353–414.

Infarmed I.P. (2014). Estatística do Medicamento 2014 – Infarmed. Acedido a 12 de Outubro, 2017:

<http://www.infarmed.pt/documents/15786/1229727/Estat%C3%ADstica+do+Medicamento+2014/988074f4-4f89-4a7c-9055-844cb88e93fd?version=1.2>

Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L., & Parrella, A. (2005). Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment*, 346(1–3), 87–98.

Jelić, A., Petrović, M. & Barceló, D. (2012) Pharmaceuticals in Drinking Water, in Barceló, D., *Emerging Organic Contaminants and Human Health*, Springer, Espanha, 47-71

Johnson, A. C., Keller, V., Dumont, E., & Sumpter, J. P. (2015). Assessing the concentrations and risks of toxicity from the antibiotics ciprofloxacin, sulfamethoxazole, trimethoprim and erythromycin in European rivers. *Science of the Total Environment*, 511, 747–755.

Johnson, K. M., Kumar, M. R., Ponmurugan, P. & Gananamanga, B. M. (2010) Ultraviolet Radiation and Its Germicidal Effect in Drinking Water Purification, *Journal of Phytology*, 2(5): 12–19

Jones, O. A. H., Voulvoulis, N., & Lester, J. N. (2001). Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment a Review. *Environmental Technology*, 22(12), 1383–1394.

Jones, O. A. H., Voulvoulis, N., & Lester, J. N. (2004). Potential Ecological and Human Health Risks Associated with the Presence of Pharmaceutically Active Compounds in the Aquatic Environment. *Critical Reviews in Toxicology*, 34(4), 335–350.

Jones, O.A.H. et al. (2002) Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.* 36, 5013–5022

Ju, H., Zhang, J., & Sun, C. (2017). Occurrence, Spatial Distribution, and Risk and Hazard Assessments of Antibiotics in Drinking Water Sources of a Polluted Large River Basin in China. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 4988(November)

- Karanfil, T. (2006). Chapter 7 Activated carbon adsorption in drinking water treatment, *Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation*, T.J. Bandosz, Estados Unidos da América, 7, 345–373.
- Karnjanapiboonwong, A., Suski, J. G., Shah, A. A., Cai, Q., Morse, A. N., & Anderson, T. A. (2011). Occurrence of PPCPs at a Wastewater Treatment Plant and in Soil and Groundwater at a Land Application Site. *Water, Air, & Soil Pollution*, 216(1–4), 257–273.
- Karthikeyan, K. G., & Meyer, M. T. (2006). Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Science of the Total Environment*, 361(1–3), 196–207.
- Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*, 8(1), 1–13.
- Kim, J., Jang, H., Kim, J., Ishibashi, H., Hirano, M., Nasu, K., Ichikawa, N., Takao, Y., & Arizono, K. (2009). Occurrence of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) in Surface Water from Mankyung River, South Korea. *Journal of Health Science*, 55(2), 249–258.
- Kim, S., & Aga, D. S. (2007). Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews*, 10(8), 559–573.
- Kleywegt, S., Pileggi, V., Yang, P., Hao, C., Zhao, X., Rocks, C., Thach, S., Cheung, P. & Whitehead, B. (2011). Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada - Occurrence and treatment efficiency. *Science of the Total Environment*, 409(8), 1481–1488.
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, 36(6), 1202–1211.
- Kümmerer, K. (2004). Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2), 311–320.
- Kümmerer, K. (2009a). Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, 75; 417–434.
- Kümmerer, K. (2009b). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part II. *Chemosphere*, 75(4), 435–441.
- Kümmerer, K. (2009c). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, 90(8), 2354–2366.
- Kümmerer, K. (2010). Pharmaceuticals in the Environment. *Annual Review of Environment and Resources*, 35(1), 57–75.
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., & Mersch-Sundermann, V. (2000). Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*, 40(7), 701-710.

- Le Page, G., Gunnarsson, L., Snape, J., & Tyler, C. (2017). Integrating human and environmental health in antibiotic risk assessment: A critical analysis of protection goal, species sensitivity and antimicrobial resistance. *Environment International*, 109(May), 155–169.
- Lekkerkerker-Teunissen, K., Benotti, M. J., Snyder, S. A., & Van Dijk, H. C. (2012). Transformation of atrazine, carbamazepine, diclofenac and sulfamethoxazole by low and medium pressure UV and UV/H₂O₂ treatment. *Separation and Purification Technology*, 96, 33–43.
- Letterman, R. D. (1999). *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*, McGraw-Hill, Inc, USA.
- Leung, H. W., Jin, L., Wei, S., Tsui, M. M., Zhou, B., Jiao, L., Cheung, P.C., Chun, Y.K., Murphy, M.B., Lam, P. K. (2013). Pharmaceuticals in tap water: human health risk assessment and proposed monitoring framework in China. *Environmental Health Perspectives*, 121(7), 839–846.
- Li, Y., Zhu, G., Ng, W. J., & Tan, S. K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: Design, performance and mechanism. *Science of the Total Environment*, 468–469, 908–932.
- Lindsey, M. E., Meyer, M., & Thurman, E. M. (2001). Analysis of Trace Levels of Sulfonamide and Tetracycline Antimicrobials in Groundwater and Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography / Mass Spectrometry, 73(19), 4640–4646.
- Liu, B., Nie, X., Liu, W., Snoeijs, P., Guan, C., & Tsui, M. T. K. (2011). Toxic effects of erythromycin, ciprofloxacin and sulfamethoxazole on photosynthetic apparatus in *Selenastrum capricornutum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4), 1027–1035.
- Liu, J., Sun, Q., Zhang, C., Li, H., Song, W., Zhang, N., & Jia, X. (2016). Removal of typical antibiotics in the advanced treatment process of productive drinking water. *Desalination and Water Treatment*, 57(24), 11386–11391.
- Liu, J., Sun, Q., Zhang, Y., Sun, C., Jia, F. & Song, W. (2013a). Removal of Sulfamethoxazole and Erythromycin from Aqueous Solution by O₃/H₂O₂; *Applied Mechanics and Materials*, 361–363, 716–721.
- Liu, J., Xu, R., Zhang, C., Song, W., Zhang, N., Jia, X., Wang, H. & Sun, Q. (2013b). Research on selected antibiotics removal from water through powder activated carbon adsorption. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(11), 578–582.
- Lofrano, G., Pedrazzani, R., Libralato, G., & Carotenuto, M. (2017). Advanced Oxidation Processes for Antibiotics Removal: A Review. *Current Organic Chemistry*, 21(12), 1054–1067.
- Loos, R., Gawlik, B. M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., & Bidoglio, G. (2009). EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environmental Pollution*, 157(2), 561–568.
- López-Serna, R., Pérez, S., Ginebreda, A., Petrović, M., & Barceló, D. (2010). Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction-liquid chromatography- electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 83(2), 410–424.

- Lupo, A., Coyne, S., & Berendonk, T. U. (2012). Origin and evolution of antibiotic resistance: The common mechanisms of emergence and spread in water bodies. *Frontiers in Microbiology*, 3(JAN), 1–13.
- Macsek, T., Švestková, T., Úterský, M., Landová, P., Hlavínek, P. & Vávrová, M. (2017). Removal of pharmaceuticals from drinking water matrix in a flow-through AOPs reactor, *15th International Conference on Environmental Science and Technology*, 1–5.
- Madureira, T. V., Barreiro, J. C., Rocha, M. J., Rocha, E., Cass, Q. B., & Tiritan, M. E. (2010). Spatiotemporal distribution of pharmaceuticals in the Douro River estuary (Portugal). *Science of the Total Environment*, 408(22), 5513–5520.
- Magdaleno, A., Saenz, M. E., Juárez, A. B., & Moretton, J. (2015). Effects of six antibiotics and their binary mixtures on growth of *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 72–78.
- Marti, E., Variatza, E., & Balcazar, J. L. (2014). The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends in Microbiology*, 22(1), 36–41.
- Martindale, W (1993). The Extra pharmacopoeia, Martindale 30th. *The Pharmaceutical Press*, London, p.161
- Martins, N., Pereira, R., Abrantes, N., Pereira, J., Gonçalves, F., & Marques, C. R. (2012). Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: Data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 1167–1176.
- McArdell, C. S., Molnar, E., Suter, M. J. F., & Giger, W. (2003). Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environmental Science and Technology*, 37(24), 5479–5486.
- Melo, S. A. S., Trovó, A. G., Bautitz, I. R., & Nogueira, R. F. P. (2009). Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, 32(1), 188–197.
- Milić, N., Milanović, M., Letić, N. G., Sekulić, M. T., Radonić, J., Mihajlović, I., & Miloradov, M. V. (2013). Occurrence of antibiotics as emerging contaminant substances in aquatic environment. *International Journal of Environmental Health Research*, 23(4), 296–310.
- Mompelat, S., Le Bot, B., & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International*, 35(5), 803–814.
- Monteiro, S.C. & Boxall A. B. A. (2010), Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Vol. 202), Springer, 53-154.
- Moreno-Bondi, M. C., Marazuela, M. D., Herranz, S., & Rodriguez, E. (2009). An overview of sample preparation procedures for LC-MS multiclass antibiotic determination in environmental and food samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(4), 921–946.
- Mutiyar, P. K., & Mittal, A. K. (2014). Occurrences and fate of selected human antibiotics in influents and effluents of sewage treatment plant and effluent-receiving river Yamuna in Delhi (India). *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(1), 541–557.

- Ngumba, E., Gachanja, A., & Tuhkanen, T. (2016). Occurrence of selected antibiotics and antiretroviral drugs in Nairobi River Basin, Kenya. *Science of the Total Environment*, 539, 206–213.
- Nie, X., Wang, X., Chen, J., Zitko, V., & Taichen, T. (2008). Response of the freshwater alga *Chlorella vulgaris* to trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(1), 168–173.
- Ou, H., Ye, J., Ma, S., Wei, C., Gao, N. & He, J. (2016). Degradation of ciprofloxacin by UV and UV/H₂O₂ via multiple-wavelength ultraviolet light-emitting diodes: Effectiveness, intermediates and antibacterial activity. *Chemical Engineering Journal*, 289, 391–401.
- Padhye, L. P., Yao, H., Kung'u, F. T., & Huang, C. H. (2014). Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. *Water Research*, 51, 266–276.
- Pal, A., Gin, K. Y. H., Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the Total Environment*, 408(24), 6062–6069.
- Park, S., & Choi, K. (2008). Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, 17(6), 526–538.
- Pena, A., Chmielova, D., Lino, C. M., & Solich, P. (2007). Determination of fluoroquinolone antibiotics in surface waters from Mondego River by high performance liquid chromatography using a monolithic column. *Journal of Separation Science*, 30(17), 2924–2928.
- Pereira, L. C., de Souza, A. O., Bernardes, M. F. F., Pazin, M., Tasso, M. J., Pereira, P. H., & Dorta, D. J. (2015). A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13800–13823.
- Pereira, V. J., Weinberg, H. S., Linden, K. G., & Singer, P. C. (2007). UV degradation kinetics and modeling of pharmaceutical compounds in laboratory grade and surface water via direct and indirect photolysis at 254 nm. *Environmental Science and Technology*, 41(5), 1682–1688.
- Preston, B. L. (2002). Indirect effects in aquatic ecotoxicology: Implications for ecological risk assessment. *Environmental Management*, 29(3), 311–323.
- Proia, L., Von Schiller, D., Sánchez-Melsió, A., Sabater, S., Borrego, C. M., Rodríguez-Mozaz, S., & Balcázar, J. L. (2016). Occurrence and persistence of antibiotic resistance genes in river biofilms after wastewater inputs in small rivers. *Environmental Pollution*, 210, 121–128.
- Quintanilla, V. Y. (2010). Rejection of Emerging Organic Contaminants by Nanofiltration and Reverse Osmosis Membranes: Effects of Fouling, Modelling and Water Reuse.
- Quintanilla, V. Y., Sadmani, A., McConville, M., Kennedy, M., & Amy, G. (2009). Rejection of pharmaceutically active compounds and endocrine disrupting compounds by clean and fouled nanofiltration membranes. *Water Research*, 43(9), 2349–2362.
- Radjenović, J., Petrović, M., Ventura, F., & Barceló, D. (2008). Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. *Water Research*, 42(14), 3601–3610.

- Real, F. J., Benitez, F. J., Acero, J. L., & Roldan, G. (2012). Combined chemical oxidation and membrane filtration techniques applied to the removal of some selected pharmaceuticals from water systems. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 47(4), 522–533.
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G., & Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, 93(7), 1268–1287.
- Robinson, A. A., Belden, J. B., & Lydy, M. J. (2005). Toxicity of fluroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(2), 423–430.
- Rodríguez-Gil, J. L., Catalá, M., Alonso, S. G., Maroto, R. R., Valcárcel, Y., Segura, Y., Molina, R., Melero, J. A. & Martínez, F. (2010). Heterogeneous photo-Fenton treatment for the reduction of pharmaceutical contamination in Madrid rivers and ecotoxicological evaluation by a miniaturized fern spores bioassay. *Chemosphere*, 80(4), 381–388.
- Rodriguez-Narváez, O. M., Peralta-Hernandez, J. M., Goonetilleke, A., & Bandala, E. R. (2017). Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*, 323(April), 361–380.
- Santos, J. L., Aparicio, I., Callejón, M., & Alonso, E. (2009). Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 164(2–3), 1509–1516.
- Santos, L. H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1–3), 45–95.
- Schutte, F., Morrison, I., Haarhoff, J., Geldenhuys, J., Loewenthal, R., & Goosen, A. (2006). *Handbook for the Operation of Water Treatment Works*. Water Research Commission. 1-77005-428-6
- Schwab, B. W., Hayes, E. P., Fiori, J. M., Mastrocco, F. J., Roden, N. M., Cragin, D., Meyerhoff, R. D., D'Arco, V. J. & Anderson, P. D. (2005). Human pharmaceuticals in US surface waters: A human health risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 42(3), 296–312.
- Silva, J., Castillo, G., Callejas, L., López, H., & Olmos, J. (2006). Frequency of transferable multiple antibiotic resistance amongst coliform bacteria isolated from a treated sewage effluent in Antofagasta, Chile. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(5), 533–540.
- Simpson, D. R. (2008). Biofilm processes in biologically active carbon water purification. *Water Research*, 42(12), 2839–2848.
- Snyder, S. A., Lei, H., & Wert, E. C. (2008). Removal of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals during Water Treatment, in: Aga, D. S. *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*, Taylor & Francis Group, USA, 229-261
- Snyder, S. A., Wert, E. C., Lei, H. D., Westerhoff, P., & Yoon, Y. (2007b). Removal of EDCs and pharmaceuticals in drinking and reuse treatment processes. *American Water Works Association Research Foundation Report*, 331. Denver, CO.

- Snyder, S. A., Wert, E. C., Rexing, D. J., Zegers, R. E., & Drury, D. D. (2006). Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. *Ozone: Science and Engineering*, 28(6), 445–460.
- Snyder, S.A. (2010). Occurrence of pharmaceuticals in U.S drinking water. In *Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations ACS Symposium Series*, Washington, DC, 1048:69–80.
- Spellman, F. R. (2003), *Handbook of Water and Wastewater Treatment Plant Operations*, Lewis Publishers, USA
- Stackelberg, P. E., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Zaugg, S. D., Henderson, A. K., & Reissman, D. B. (2004) Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Science of the Total Environment*, 329, 99–113
- Sukul, P. & Spiteller, M. (2007). Fluoroquinolone antibiotics in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 191, 131–162.
- Suzuki, S., & Hoa, P. T. P. (2012). Distribution of quinolones, sulfonamides, tetracyclines in aquatic environment and antibiotic resistance in Indochina. *Frontiers in Microbiology*, 3(FEB), 1–8.
- Szymonik, A., Lach, J., & Malińska, K. (2017). Fate and removal of pharmaceuticals and illegal drugs present in drinking water and wastewater. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 24(1), 65–85.
- Taheran, M., Brar, S. K., Verma, M., Surampalli, R. Y., Zhang, T. C., & Valero, J. R. (2016). Membrane processes for removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) from water and wastewaters. *Science of the Total Environment*, 547, 60–77.
- Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32(11), 3245–3260.
- Ternes, T. A., Janex-Habibi, M., Knacker, T., Kreuzinger, N., & Siegrist, H. (2004). Assessment of Technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Sewage and Drinking Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse (POSEIDON), 61. [https://doi.org/POSEIDON Final Report- EU Research Programme](https://doi.org/POSEIDON%20Final%20Report-%20EU%20Research%20Programme)
- Tobajas, M., Verdugo, V., Polo, A. M., Rodriguez, J. J., & Mohedano, A. F. (2016). Assessment of toxicity and biodegradability on activated sludge of priority and emerging pollutants. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 37(6), 713–721.
- Touraud, E., Roig, B., Sumpter, J. P., & Coetsier, C. (2011). Drug residues and endocrine disruptors in drinking water: Risk for humans? *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 214(6), 437–441.
- Välitalo, P., Kruglova, A., Mikola, A., & Vahala, R. (2017). Toxicological impacts of antibiotics on aquatic micro-organisms: A mini-review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(3), 558–569.
- Van Boeckel, T. P., Gandra, S., Ashok, A., Caudron, Q., Grenfell, B. T., Levin, S. A., & Laxminarayan, R. (2014). Global antibiotic consumption 2000 to 2010: An analysis of national pharmaceutical sales data. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(8), 742–750.

- Vance-Bryan, K., Guay, D. R. P., & Rotschafer, J. C. (1990). Clinical Pharmacokinetics of Ciprofloxacin. *Clinical Pharmacokinetics*, 19(6), 434–461.
- Vasconcelos, T. G., Kümmerer, K., Henriques, D. M., & Martins, A. F. (2009). Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1–3), 1154–1158.
- Vieno, N. M., Härkki, H., Tuhkanen, T., & Kronberg, L. (2007). Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environmental Science and Technology*, 41(14), 5077–5084.
- Watkinson, A. J., Murby, E. J., Kolpin, D. W., & Costanzo, S. D. (2009). The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Science of the Total Environment*, 407(8), 2711–2723.
- Wei, R., Ge, F., Chen, M., & Wang, R. (2012). Occurrence of Ciprofloxacin, Enrofloxacin, and Florfenicol in Animal Wastewater and Water Resources. *Journal of Environment Quality*, 41(5), 1481–6.
- Wen, Z. H., Chen, L., Meng, X. Z., Duan, Y. P., Zhang, Z. S., & Zeng, E. Y. (2014). Occurrence and human health risk of wastewater-derived pharmaceuticals in a drinking water source for Shanghai, East China. *Science of the Total Environment*, 490, 987–993. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.087>
- WHO (2011). Pharmaceuticals in Drinking-water. *World Health Organization*
- WHO (2012). Pharmaceuticals in Drinking-water. *World Health Organization*
- WHO (2014). Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance. *Bulletin of the World Health Organization*, 61(3), 383–394.
- Xi, C., Zhang, Y., Marrs, C. F., Ye, W., Simon, C., Foxman, B., & Nriagu, J. (2009). Prevalence of antibiotic resistance in drinking water treatment and distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(17), 5714–5718.
- Xu, W. H., Zhang, G., Wai, O. W. H., Zou, S. C., & Li, X. D. (2009). Transport and adsorption of antibiotics by marine sediments in a dynamic environment. *Journal of Soils and Sediments*, 9(4), 364–373.
- Xu, W. H., Zhang, G., Zou, S. C., Li, X. D., & Liu, Y. C. (2007). Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, 145(3), 672–679.
- Xu, Y., Chen, T., Wang, Y., Tao, H., Liu, S., & Shi, W. (2015). The occurrence and removal of selected fluoroquinolones in urban drinking water treatment plants. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(12), 729.
- Xu, Y., Liu, T., Zhang, Y., Ge, F., Steel, R. M., & Sun, L. (2017). Advances in technologies for pharmaceuticals and personal care products removal. *Journal of Materials Chemistry A*, 5(24), 12001–12014.

- Yang, L. H., Ying, G. G., Su, H. C., Stauber, J. L., Adams, M. S., & Binet, M. T. (2008). Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(5), 1201–1208.
- Yang, S., & Carlson, K. (2004). Routine monitoring of antibiotics in water and wastewater with a radioimmunoassay technique. *Water Research*, 38(14–15), 3155–3166.
- Ye, Z., & Weinberg, H. (2004). Occurrence of antibiotics in drinking water. *Disrupting Chemicals in Water*, 138–142.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., & Wert, E. C. (2006). Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products. *Journal of Membrane Science*, 270(1–2), 88–100.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., Wert, E. C., & Yoon, J. (2007). Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Desalination*, 202(1–3), 16–23.
- Zhang, Q., Ying, G., Pan, C., Liu, Y., & Zhao, J. (2015). A Comprehensive Evaluation of Antibiotics Emission and Fate in the River Basins of China: Source Analysis, Multimedia Modeling, and Linkage to Bacterial Resistance. *Environmental Science & Technology*
- Zhang, X., Guo, W., Ngo, H. H., Wen, H., Li, N., & Wu, W. (2016a). Performance evaluation of powdered activated carbon for removing 28 types of antibiotics from water. *Journal of Environmental Management*, 172, 193–200.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., & Fanelli, R. (2005). Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 122(3), 205–209.